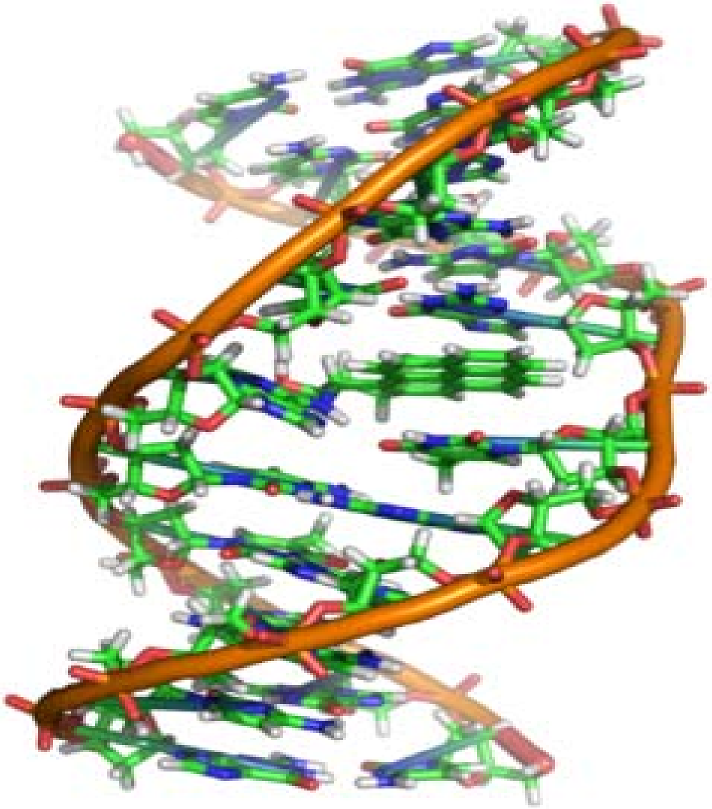
أساسيات التقنية الحيوية



دكتـــــور

على إبراهيم على عبيده

أستاذ الخضر وزراعة الأنسجة
عميد كلية الزراعة - سابا باشا –
جامعة الإسكندرية

دكتـــــور

أحمد عبد الفتاح محمود

كيمياء وسمية المبيدات
كلية الزراعة - سابا باشا –
جامعة الإسكندرية

مع تحيات د. سلام حسين الـهلالي

salamalhelali@yahoo.com

https://www.facebook.com/salam.alhelali

https://www.researchgate.net/profile/Salam_Alhelali?ev=hdr_xprf

07807137614

مقدمـــــــــة

مما لا يدع مجالاً للشك أن التقدم الهائل وغير المسبوق فى مجال التقنيـة الحيوية، والذى ترتب عليه إكتشافات علميـة حديثـة ومذهلـة فـى شتـى المجـالات البحثية والتطبيقية ومن ثم كان له بـالغ الأثر فـى إصدار هذه الرؤيـة متمثلـة فـى هذا الكتـاب٠ وتلك الرؤيـة مـا هـى إلا خطـوات مضيئة علـى الطريق ومحاولـة متواضعة منا بل دعوة لسبر أغوار هذا المجـال وإنطلاقـه تحقق طموحنـا نحـو طفرة علميـة حديثـة فـى هذا المجـال٠ ويعد الكتـاب بمثابـة خطـوة علـى طريـق المعرفه والتسلح بأساسيات هذا العلم الذى سوف يكون لـه السبق فـى السيطرة والهيمنة على إقتصاديات شعوب العالم فى الألفية الحاليـة و الذى سيعد مـن أهـم الركـائز الهامـة والجوهريـة فـى دعـم وتنميـة إقتـصادنا القـومى بـل نقطـة البـدء والتحول نحو آفاق طفرة علمية غير مسبوقه فى مصرنـا الحبيبه٠

إن التقنية الحيوية ليست وليدة اليوم ولم تأت صدفة ولكنها موجودة منذ القدم، وربمـا كـان لأجدادنا قدماء المصريين السبق فـي التفكيـر والتنقيـب فـى أسرار التقنية الحيوية والهندسة الوراثية فهم أول مـن إكتشف إستخدام الكائنـات الحية الدقيقة في الصناعات الغذائية مثل تخمير الخبز، الشعير، اللبن، والقشدة وعمـل النبيذ مـن الفاكهـة وأبـى الـذى يـدمج بـين رأس الإنسان وجسد الأسـد٠ ويشهد العـالم مـن حولنـا دون أدنـى شـك تطـوراً مثيـراً للغايـة فـي مجـال أبحـاث التقنية الحيوية وصناعاتها التى لا يستهدف فقط الحاضر بل تستشرف المستقبل على حد سواء٠ وتتطور هذه التقنيـة المذهلـة بسرعة فائقـة تفوق الخيـال وتقلـق أهل العلم والسياسة والاقتصاد في جميع أنحاء العالم تخوفاً من نتائجهـا المحتملـة على صحة البشر وتأثيرها المباشر وغير المباشر بالقضاء على التنـوع الحيـوي بين النباتات والحيوانات في العالم والذي تراكم عبر آلاف السنين٠

إن التقنية الحيوية مطلباً جوهرياً وأساسياً فى كافة مجالات العلوم بصفة خاصة والمجالات التطبيقية الحياتيه بصفة عامة. إننا نعيش بحق لغة جديدة يتحدث بها العالم فى من حولنا ألا وهى لغة التقنية الحيوية والتى تغزو العالم بأسره. بل إن آفاق تلك التقنية الحيوية لا تزال في بداية الطريق وستشمل قريباً المزيد من الأبحاث العلمية المذهلة فى كل المجالات التطبيقية. ويمكن أن تساهم تلك التقانات الحيوية فى العديد من التحسينات الحياتيه خاصة فى المجال الزراعى مثل إستخدام عناصر محسنة في تغذية النباتات، وتقنيات صيانة التربة والمياه، والبذور الجيدة وأصناف المحاصيل عالية الأنتاج، وتحسين التقنيات التقليدية الراهنه لتكثيف الإنتاج الزراعي لسد الفجوه بين الأنتاج والأستهلاك، وأيضاً إستخدام أدوات تشخيص الأمراض البيطرية واللقاحات، وتطبيقها في مجالات تربية النباتات والحيوانات، وكذلك التقليل من الملوثات البيئية بشتى صورها التى تهدد الحياة من حولنا وتصيبنا بأشد الأمراض فتكًا. حقاً لقد أصبح للتقنية الحيوية أهداف عظيمة تحقق بعضها وجارى العمل على قدم وساق لتحقيق الباقى ولن تنتهي الطموحات التى فتحها هذا العلم لخدمة البشرية فى كافة المجالات. وهذا الكتاب يلقى بظلاله على بعضاً من تلك التقانات الحيوية ليس فقط من خلال الدعوة إلى تثقيف القارئ بماهية تلك التقانات العلمية الحديثة، بل أيضاً لتبصيره بآثارها الإيجابية وكذلك السلبية على المدى الطويل. هذا وقد تم إمداد هذا الكتاب بقاموس لأهم مصطلحات التقنية الحيوية بقدر الأمكان نظراً لأهمية الألمام بها. ونسأل **الله** تعالى أن نكون قد وفقنا فى إلقاء بصيص من الضوء على هذا العلم العظيم خاصة فى المجالات الزراعية والبيئية.

والله ولى التوفيق

المؤلفـــان

الباب الأول

مقدمة فى التقنية الحيوية

تعتبـر التقنيـات الحيويـة محـصلة لمجموعـة علـوم فـي علـم تـشكلت ملامحـه الأوليـة منـذ عـام ١٩٨١م لتنـتج العديـد مـن النـواتج المـؤثرة علـى البـشرية، ومـع تزايـد الحـديث عـن تبعـات هـذه التقنيـات الحاليـة والمـستقبلية تـزداد الحاجـة لبيـان أهميتهـا وبخاصـة آثارهـا الإقتـصادية، لأن الدراسـات المـستقبلية والقـائمين عليهـا لـم تطلـق كلمتهـا الأخيـرة فـي عمـق الإختراقـات المتوقعـة للتقانـات الحيويـة – (وبـالأخص الهندسـة الوراثيـة) – فـي صـميم الحيـاة وإعـادة مـزج أو تـشكيل بنيتهـا الأوليـة٠ ويعـزز هـذه المقولـة البروفيـسور **Charles H. Townes** الحـائز علـى جـائزة نوبـل عـام ١٩٦٤ في الفيزياء والأستاذ بجامعة كاليفورينا – بيركلي حيث يقول:

"ما هى الإتجاهات الحديثة فى القرن الحادى والعشرين؟

“What are the new directions for science in the 21st Century?

As we learn more about bioengineering & Biotechnology, we will be able to recreate things that the healthy body does automatically. The possibilities of what might be done are absolutely fantastic"

كلما تعلمنا المزيد عن الهندسة الحيوية والتكنولوجيا الحيوية، سوف نمتلك القدرة على إعادة الأشياء بحيث يعمل الجسم السليم آلياً٠ وأن إحتمالات ما يمكن أن يحدث سيكون مثير للدهشة"٠

وتعتبر التقنيات الحيوية من العلوم الضاربة في جذور التاريخ حيث أنها تجمع بين الأحياء الدقيقة والتقنيات الآلية٠ وقد تطور مفهوم هذا العلم في السنوات الأخيرة بشكل كبير جداً ليرتبط بحياة الناس بشكل مباشر في مختلف الميادين الحياتية وبالتالي كان له الأثر الإيجابي في إقتصادهم٠

مفهوم التقنية الحيوية Biotechnology

إن التقنيات الحيوية تجمع بين الوسائل أو الأدوات العملية لحل المشاكل (تقنية) وإنتاج منتجات مفيدة (حيوية)، وعلى أية حال يستخدم هذا المفهوم منذ آلاف السنين عندما إستخدمت الحيوانات والنباتات لإنتاج الغذاء والكساء والدواء٠ وتغير هذا المفهوم قبل ما يقارب سبعين عاماً عندما إستخدمت بعض الكائنات الحية الدقيقة لإنتاج المضادات الحيوية والأمصال وكذلك الخمائر، وتطور مفهوم العلم بصورة متسارعة منذ إكتشاف المادة الوراثية (**DNA**) بتفاصيلها الدقيقة (الكروموسومات، الجينات، والقواعد النيتروجينية)٠

بدأ الإنسان خلال الستينات والسبعينات من القرن الماضي في إستخدام بعض مكونات الخلايا في التطبيقات الحيوية مما طور مفهوم التقنية الحيوية إلى التطبيقات المتخصصة جداً ومن هنا نشأ تباين شديد في تعريف هذا العلم بين المدارس العلمية المختلفة وأصبح له عدد من التعاريف٠ فالمجتمع العلمى البريطاني مثلاً يعرفها بأنها "التطبيقات الحيوية والأنظمة ومراحل الإنتاج التصنيعية"، والتعريف الياباني بأنها "تقنية تستخدم الظواهر الحيوية لنسخ وإنتاج منتجات حيوية مفيدة"، والتعريف الإمريكي بأنه "إستخدام منظم للأحياء مثل الكائنات الحية الدقيقة أو المكونات الحيوية لأغراض مفيدة"، أما التعريف الأوربي فهو "الإستخدام المتداخل لعلوم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة والهندسة للوصول إلى تطبيقات صناعية من الأحياء الدقيقة وزراعة الأنسجة أو أجزاء منها"٠

فكلمة **Biotechnology** مكونة من مقطعين: الأول (**Bio-**) وهو مشتق من الكلمة اللاتينية " **Bios** " بمعنى الحياة (**Life**) أما الثانى

(Technology) فيعنى الطريقة المنظمة لعمل الأشياء (Systematic methodology)٠

ويقصد بالتكنولوجيا الحيوية بصفة عامة بأنها "أية تطبيقات تكنولوجية تستخدم النظم البيولوجية، والكائنات الحية أو مشتقاتها، لصنع أو تحوير المنتجات أو العمليات من أجل إستخدامات معينة" وتشير مصادر منظمة الأغذية والزراعة التابعة للأمم المتحدة (FAO) إلى أنّ هناك طائفة واسعة من "التكنولوجيات الحيوية"، ذات تقنيات وتطبيقات مختلفة٠ ويشمل مفهوم التكنولوجيا الحيوية بمعناه الواسع، الكثير من الأدوات والتقنيات التي أصبحت مألوفة في نطاق الإنتاج الزراعي والغذائي٠ أما بمعناه الضيق، الذي لا يراعى سوى تقنيات الشفرة الوراثية الجديدة، والبيولوجيا الجزيئية، وتطبيقات الإكثار التكنولوجية، فيغطى طائفة من التكنولوجيات المختلفة، مثل معالجة الجينات ونقلها وتغيير الشفرة الوراثية، وإستنساخ النباتات والحيوانات٠ ولقد تمكنت التكنولوجيا المعلوماتية **Bioinformatics** في وقت قصير من قلب مفاهيم إعتمد عليها البشر لآلاف السنين سعياً وراء تأمين الغذاء والمسكن والدواء والحماية وسواها من متطلبات الحياة اليومية، إلا أنها خلقت تحديات خطيرة بالتوازى مع تقديمها للحلول٠

فاليوم ومع تحقيق التكنولوجيا الحيوية لنجاحات متزايدة، تبدو الصورة أقل إشراقاً لأن التكنولوجيا التي تساهم في إطعام جياع إفريقيا والفقراء حول العالم ساهمت سابقاً في تطوير صواريخ تحمل رؤوساً بيولوجية قادرة على إبادة البشر تماماً كما تُباد الحشرات٠ ويجمع الخبراء على مقولة أساسية تتلخص في أن التقدّم في العلوم الحيوية يحمل معه وعوداً هائلة للإنسانية، إلا أن هذا التقدّم سوف يسبب أيضاً أخطاراً حادة على الإنسانية وعلى بيئتنا ما لم

يتم التحكم فيه على نحو ملائم أو إذا ما إستخدم التقدم كأداة للحرب أو نشر الهلع أو غير ذلك من أشكال سوء الإستخدام٠

فعالمنا يشهد تطوراً مثيراً للغاية جداً في مجال أبحاث التكنولوجيا الحيوية وصناعاتها٠ وأصبحت هذه التكنولوجيا المتقدمة تتطور بسرعة فائقة وتقلق أهل العلم والسياسة والاقتصاد في جميع أنحاء العالم تخوفاً من نتائجها المحتملة على صحة البشر وتأثيرها المباشر وغير المباشر بالقضاء على التنوع الحيوي بين النباتات والحيوانات في العالم الذي تراكم عبر آلاف السنين٠ ومن المعروف أن هناك عدداً محدوداً من شركات التكنولوجيا الحيوية العملاقة تسيطر على غالبية المنتجات المعدلة جينياً (وراثياً) بمساعدة الأنظمة المعلوماتية في الأسواق العالمية٠ ويقول العلماء المختصون: إن آفاق التكنولوجيا الحيوية لا تزال في بداية الطريق وستشمل قريباً المزيد من منتجات الغذاء والدواء٠

إذن ما هي التكنولوجيا الحيوية؟

Then, what is Biotechnology?

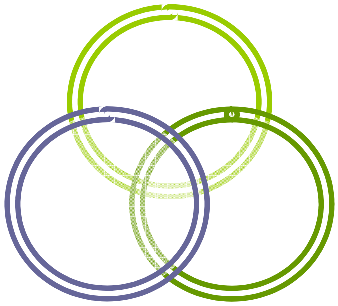
إن التكنولوجيا الحيوية هي التطبيق المعلوماتي الصناعي للتكنولوجيات التي يتم تطويرها أو إستخدامها في العلوم البيولوجية وخصوصاً تلك التي تتصل بالهندسة الوراثية٠ ويتفق الخبراء على أن العالم على حافة ثورة في هذا المجال٠ وتتمتع التطورات في مجال التكنولوجيا الحيوية بقدرات هائلة على رفاهية ورخاء الإنسانية٠ على سبيل المثال، من خلال إنتاج لقاحات لأمراض لم يكن له علاج من قبل، وزيادة إنتاج الغذاء، والوقاية من أمراض وتشوهات وراثية عديدة٠ وتحمل ثورة التكنولوجيا الحيوية إلى جانب فوائدها إمكانات هائلة لإساءة الإستخدام أيضاً٠ ويمكن تعريف التكنولوجيا الحيوية أيضاً بأنها عملية تغيير جزء بسيط جداً في الخريطة الوراثية لنوع أو أكثر من خلايا

النبات أو الحيوان، وغالباً ما يتم ذلك بمساعدة جزء من المادة الوراثية المستخلصة من أحد الميكروبات٠ ويهدف هذا التغير الوراثي إلى زيادة في إنتاج زراعي مثل الذرة وفول الصويا أو إنتاج بذور نباتات معدلة وراثياً لمقاومة تأثير الحشرات والأمراض والجفاف التي تصيب البطاطس والطماطم والتبغ والقطن وغيرها، كما يتم حالياً تطوير أنواع وراثية من الأبقار والأغنام لإنتاج حليب ذي مواصفات غذائية خاصة يحتوي على العديد من البروتينات المفيدة التي يمكن إستعمالها لمقاومة عدد من الأمراض أو أنواع من الأحماض الأمينية الضرورية لصحة الإنسان٠

وتقول اللجنة الدولية للصليب الأحمر في إنتقادها لبعض جوانب إستخدامات التكنولوجيا الحيوية؛ إن التاريخ قد أظهر أن الكثير من التطورات المهمة في العلوم والتكنولوجيا تم تحويلها إلى إستخدامات عدائية، وليست الكيمياء والطيران والإلكترونيات والفيزياء النووية إلا بعض أمثلة٠ وقد تمكن نتائج ثورة التكنولوجيا الحيوية من تطوير الأسلحة البيولوجية وإستخدامها في المنازعات المسلحة أو كوسيلة لنشر الرعب بين المدنيين٠ وقد يصبح نشر المرض عمداً، والقدرة على تغيير وظائف الجسم دون معرفة الفرد بذلك أسهل، وأكثر فتكاً، وأقل تكلفة، وأكثر صعوبة في الإكتشافات٠ وتضيف اللجنة الدولية للصليب الأحمر في موقعها على الإنترنت أنه يمكن التلاعب بعوامل الحرب البيولوجية المعروفة لجعلها أسهل إستخداماً٠ ويكون ذلك عبر التلاعب بالتركيب الجيني لعناصر الحرب البيولوجية القائمة مثل الأنثراكس، وذلك لزيادة إمكان إستخدامها كسلاح بيولوجى٠ فعلى سبيل المثال يمكن جعلها مقاومة للمضادات الحيوية والعوامل البيئية مثل الجفاف والأشعة فوق البنفسجية التي تجعلها غير ضارة في الأحوال العادية٠ كذلك يمكن تحويل الميكروبات غير الضارة إلى ميكروبات خطيرة بعد التلاعب بهندسة تلك الكائنات جزيئياً

والتي نتعايش معها يومياً كي تنتج سموماً خاصة تسبب المرض. ومما سبق يمكن تعريف هذا العلم بأنه "الإستخدام التقني الموجه للكائنات الحية على المستوى الخلوي والجزيئي للحصول على نواتج مفيدة".

وتعتمد التقنيات الحيوية الحديثة على دراسة المادة الوراثية للكائنات الحية والإستفادة منها من خلال إستخلاصها وتحويرها ومن ثم إنتاج مواد مستخلصة جديدة منها وهو ما يعرف بالهندسة الوراثية، كما تشمل أيضاً التقنيات الحيوية علم زراعة الخلايا والأنسجة وهي تعمل كأوعية تحوي المادة الوراثية يتم إكثارها لتقوم بالدور المطلوب منها، كما يشترك أيضاً علم الأجسام المضادة وحيدة النسيلة **Monoclonal antibodies** وتقوم بدور أساسي في كشف وتحديد كفاءة المنتجات الخارجة من الخلايا (شكل ١).



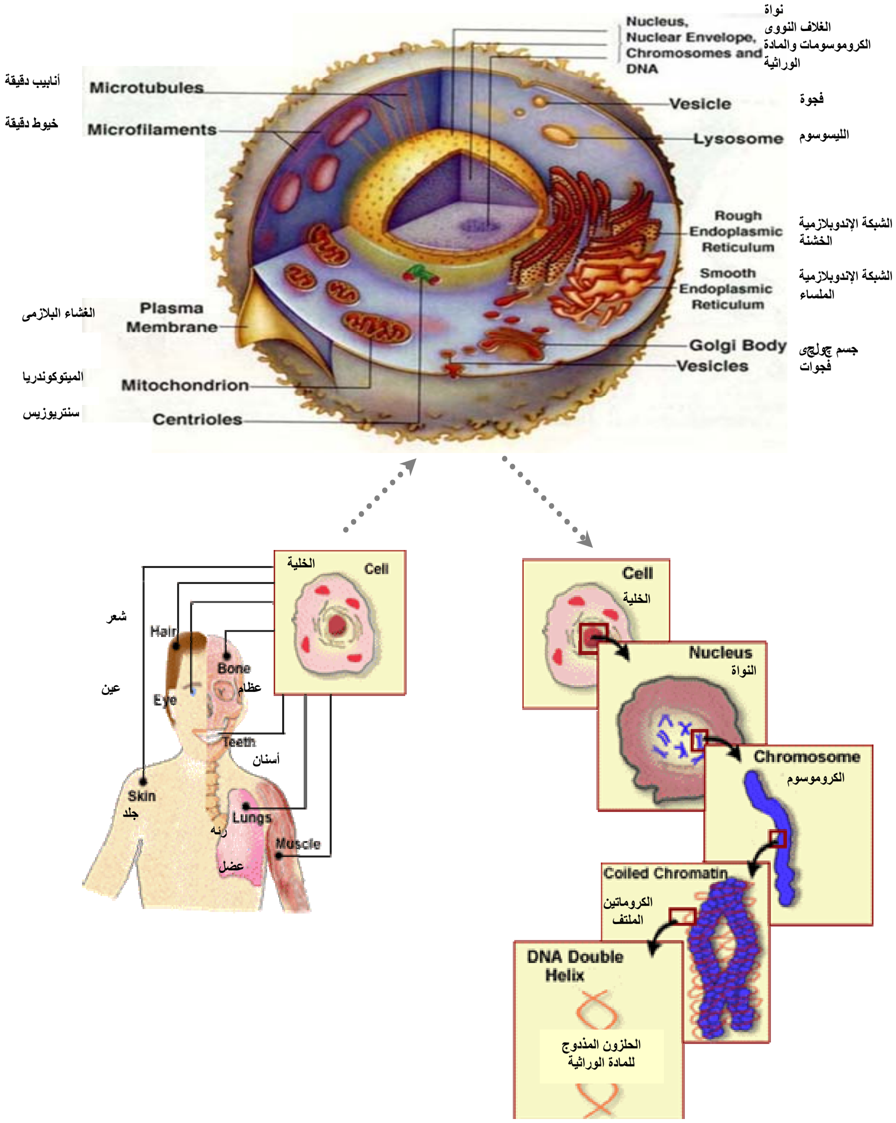
شكل ١: التقنيات المتداخلة في التقنية الحيوية

الحامض النووى (DNA) Deoxyribonucleic Acid

تتكون الكائنات الحية من أجزاء رئيسة كالأعضاء والتي تتكون من أنسجة، والأنسجة بدورها تتكون من ملايين من الخلايا؛ وذلك في الكائنات معقدة من حيث التركيب كما في الإنسان والحيوان والنبات وقد يتكون الكائن

الحي من خلية واحدة فقط أو من عدد محدود من الخلايا كما في البكتيريا والفطريات. وتقوم كل خلية بوظيفة محددة بحسب نوعها والنسيج الذي تنتمي إليه (شكل ٢).

ويوجد في كل خلية نواة تحتوى على نوية يوجد بها عدد من



شكل ٢ : تقنية هندسة الجينات

الكروسومات (المادة الوراثية) وتستفيد الخلية من مورثات (جينات) المادة الوراثية لإنتاج البروتينات المطلوبة بحسب وظيفتها وحاجتها، ويختلف عدد الكروسومات بحسب الكائن الحي ففي الإنسان يوجد ٤٦ كروسوم وفي بعض النباتات عدد أعلى من هذا بكثير يصل في بعض النباتات إلى أكثر من مائة كروسوم٠

وجدير بالذكر أن عدد الكروسومات عادة ما يكون زوجي نصفها يأتي من الذكر والنصف الآخر من الأنثى يلتقيان عند التزاوج ليكونا الجنين٠ وكل كروسوم مكون من شريطين متوازيين متكاملين من المادة الوراثية المسماة الحامض النووى **DNA** ملتفان حول بعضهما بمشاركة البروتينات اللازمة لهذه العملية٠ ويحتوي كل كروسوم على عدد كبير من الجينات التي تقوم بالوظائف الحيوية في الكائن٠ تتكون المورثات من المادة البنائية الوراثية والمسماة قواعد نيتروجينية (نظراً لإحتوائها على مادة النيتروجين كعنصر أساس)٠ وهناك أربعة أنواع من القواعد النيتروجينية الأساسية ويرمز لها بالرموز أدينين (**A**)، جوانين (**G**) سيتوسين (**C**)، ثيامين (**T**)، ويعمل ترتيبها على تكوين الشفرة الخاصة بالأوامر الوراثية٠ تحفظ المادة الوراثية في النواة ولا يمكن أن تخرج منها بأي حال من الأحوال وتقوم المادة الوراثية بتسيير أمور الخلية٠

وتقوم الخلية عند الحاجة إلى تنفيذ مهمة ما بفك كود الشفرة المحمولة في المورث المطلوب وبالتالي تقوم المادة الوراثية بعد فك شفرتها والمسماة الحامض النووى **RNA** بالخروج من النواة إلى سائل الخلية والذي يحوي مصانع البروتينات (وهي أجهزة خاصة بترجمة المادة الوراثية إلى بروتين) والمسماة رايبوسومات حيث تقوم تلك الرايبوسومات بإنتاج البروتين المطلوب بالكمية المطلوبة، وعند إنتهاء الحاجة من البروتين تقوم الخلية بالتخلص منه٠

ومما سبق يتضح أن المادة الوراثية تحمل المعلومات بينما البروتينات تقوم بالوظيفة البنائية للخلايا الجديدة إضافة إلى آلية تنفيذ أوامر المادة الوراثية٠

التحوير الوراثي Genetical Modification

إن التحوير الوراثي هو أي تغيير يحدث في المادة الوراثية الأصلية إما بصورة طبيعية أو بالتدخل البشري وهذا الأخير إما تقليدي كالذي يحدث في تزاوج سلالات نقية لمزج الصفات أو إستخدام الأشعة أو بإستخدام التقنيات الحيوية الحديثة٠ وتنتقل الصفات الوراثية من جيل الآباء إلى الأبناء من خلال التزاوج الطبيعي، والذي يصاحبه أحياناً طفرات تحدث بشكل طبيعي بسبب الأشعة فوق البنفسجية والتي تسبب تلفاً للمادة الوراثية، أو بعض العوامل الكيميائية وغيرها من الأسباب٠ على أيه حال جزء من هذه التحويرات يتوارث من جيل إلى آخر منتجاً صفات جديدة للكائن الحي٠

وتحدث في الكائنات الحية آليات يتم من خلالها إستبدال أو إنتقال أجزاء من المادة الوراثية من كروسوم إلى آخر منتجة تحويراً في الكائن الحي، وهذه العملية تحدث أحياناً بشكل دقيق ومدروس وأحياناً بطريقة عشوائية – إن صح التعبير – تسمى هذه العملية بإعادة الترتيب أو التوليف وينتج عن ذلك إختلاف في الصفات عن صفات الجيل السابق٠ كما أن هناك أنواع أخرى من التحويرات التي تحدث بشكل طبيعي والتي لا تعدو كونها إنتقال لصفات ضمن نفس الجنس أو الفصيلة٠

لقد إقتصر التدخل البشري سابقاً في التحوير الوراثي بالطرق التقليدية المتمثلة بشكل أساسي في المزاوجة بين سلالات نقية من النباتات لإنتاج نباتات جديدة بالصفات المرغوبة٠ الطريقة الأخرى والأكثر حداثة في تعريض النبات إلى موجات من الأشعة لإحداث طفرات بشكل عشوائي ومن ثم إختيار النباتات

المحورة ذات الصفات المرغوبة. إن التحوير الوراثي بإستخدام التقانات الحيوية الحديثة يعتمد بشكل أساسي على تقنية توليف أو إعادة توليف المادة الوراثية DNA recombination والتي يمكن تعريفها بانها "نوع من الحياكة الحيوية لربط صفات كائنات بأخرى".

ولتحوير النبات بالطرق الحديثة تتبع الخطوات التالية:

تحديد الصفات المطلوبة	**Gene identification**
تحديد المورثات ومضاعفتها	**Gene amplification**
عزل المورثات وتحويرها	**Gene isolation**
ربطها بحامل وراثي مناسب	**Gene recombination**
مضاعفة المورثات وتنقيتها وفحصها	**Gene purification**
زرع الصفات في الكائن المضيف	**Gene cloning**
التأكد من وجود الصفة وجودة المنتج	**Gene expression**

أبرز مدخلات وتطبيقات التقنيات الحيوية

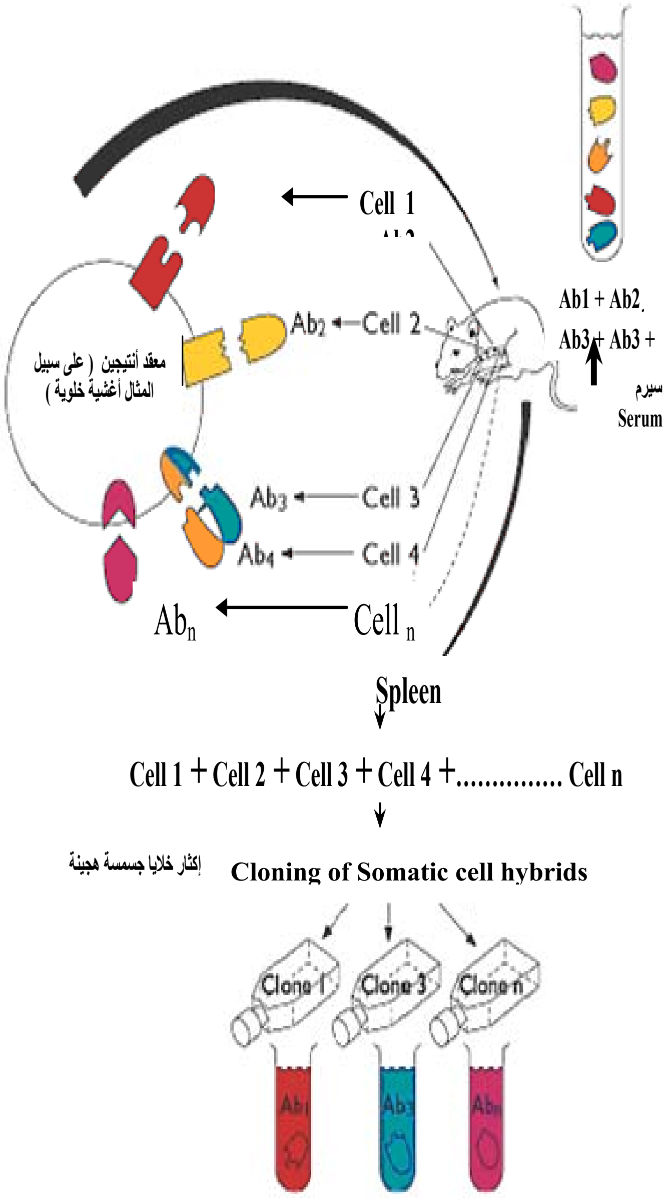
Input and Applications of Biotechnologies

يمكن إعتبار كل تقنية من التقنيات الحيوية هي بدورها مجموعة التقانات ولذا يشاع حالياً إستخدام تعبير التقنيات الحيوية بدلاً من التقنية الحيوية، وفيما يلي عرض لأهم التقنيات في التطبيقات الحيوية ويلخص الشكل التالي تداخل هذه التقنيات مع بعضها البعض.

أولاً: الأجسام المضادة وحيدة النسيلة Monoclonal Antibodies

تستخدم فيها خلايا الجهاز المناعي والتي تبني الأجسام المضادة والتى تتميز بالقدرة التخصصية العالية جداً وبالتالي يمكن تحديد وإكتشاف العناصر الحيوية بدقة ولو كانت بكميات ضئيلة جداً.ومن تطبيقاتها تحديد وكشف

الملوثات البيئية وكذلك الكشف على الكائنات الدقيقة الضارة في الغذاء (شكل ٣)٠



شكل ٣ : الأجسام المضادة وحيدة النسيلة

ثانياً: تقنية زراعة الأنسجة Tissue Culture Technology

وهي زراعة الخلايا في أوعية زراعة تحت الظروف المعقمة *in vitro* وذلك فى معامل خاصة بزراعة الأنسجة٠

ومن تطبيقاتها:-

- إستخدام الخلايا الثديية في الكشف على كفاءة الأدوية بدلاً من الحيوانات مما يعكس الأمان والدقة٠
- العلاج الخلوي٠
- إنتاج العقاقير النباتية من الخلايا مباشرة بدلاً من النباتات٠
- إكثار وتضاعف الأنسجة النباتية في المعمل٠

ثالثاً: الإستنساخ أوالإستنسال Cloning

إنتاج أعداد ونماذج متطابقة وراثياً من الجزيئات والخلايا والحيوانات والنباتات وهي على ثلاثة أنواع:-

١. الإستنساخ الجزيئي DNA Cloning

وهو أساس علم البيولوجيا الجزيئية **Molecular Biology** وهو من أهم تقنيات الهندسة الوراثية التي تستهدف التطوير والإنتاج٠ كما أن جميع التطبيقات الخاصة بإعادة توليف المادة الوراثية من البحث الأساسى إلى الإنتاج الدوائي تعتمد على هذه التقنية الحديثة٠

٢. الإستنساخ الخلوي

Cord Blood Stem and Cells Cloning

وهو بدوره مهم ومكمل لسابقه خاصة أبحاث الأجسام المضادة وحيدة النسيلة، ومن تطبيقاته:

- إكثار النباتات بزراعة الأنسجة المحورة وراثياً والأخرى غير المحورة٠

- إنتاج الأدوية من الخلايا البشرية٠

٣. الإستنساخ الحيواني Reproductive Cloning

ولعل شهرة المنتج المسمى بالنعجة دوللى أعطت خلفية جيدة عن مثل هذا الموضوع مع أن تطبيقاته أكثر تعقيداً وصعوبة٠

رابعاً: التحوير الوراثي Transformation

في السابق كان التحوير الوراثي ضمن نفس النوع والجنس أحياناً من خلال التزاوج والتلقيح٠ أما الآن فالتحوير الوراثي يحدث بنقل الجينات من نوع إلى آخر أو بتحوير جينات نفس النوع ومن تطبيقاته:-

- إنتاج الأدوية واللقاحات٠
- علاج بعض الأمراض الجينية٠
- زيادة الإنتاج الزراعي وتقليل التكلفة٠
- زيادة قيمة المحتوى الغذائي في الطعام٠

خامساً: هندسة البروتينات Protein Engineering

تعتمد هذه التقنية على مفهوم التحوير الوراثي من أجل إنتاج بروتينات محددة أو بروتينات جديدة لها إستخدامات مفيدة مثل الإنزيمات والمحفزات الحيوية **Biocatalysts**٠

سادساً: تقنية الهجين Hybrid Technology

على الرغم من أن التقنيات السابقة تعتمد على الكائن الحي فقط، إلا أنها فتحت آفاقاً علمية جديدة من خلال إستخدام المادة الوراثية وقدرتها على التعرف والإلتصاق بالجزء المكمل أو المشابه لها، وذلك بربطها بالعلوم والمعارف الأخرى لتعطي تطبيقات مفيدة مثل:-

١) الكواشف الحيوية Biosensors

تربط هذه التقنية علم الأحياء بالإلكترونيات الدقيقة **Microelectronics** من خلال ربط خلايا أو مضادات حيوية بموصلات ناقلة **Transducer**، وهي تقنية ترصد عوامل بتركيزات دقيقة جداً وتحول الإشارة الحيوية الخاصة بإرتباط المادة المطلوبة إلى إشارة رقمية تعكس الكمية الموجودة. من تطبيقاتها أيضاً:

- قياس المحتوى الغذائي وجودته وسلامته.
- مساعدة الأطباء لقياس مكونات محددة في الدم وبشكل مباشر.
- قياس الملوثات البيئية.

٢) هندسة الأنسجة Tissue Engineering

تربط هذه التقنية بين علم الخلية وعلم المواد لإنتاج أنسجة صناعية في المعامل مع دعاماتها **Scaffolds** ومن الأمثلة الناجحة لهذه التقنية بناء الجلد والغضاريف.

٣) رقائق المادة الوراثية DNA Chip

وهي تزاوج بين صناعة شبه الموصلات **semi conductive** والجينات مما يمكن من تحليل عشرات الآلاف من الجينات في رقاقة واحدة لا تتجاوز مساحتها السنتيميتر المربع.

ومن تطبيقاتها:

- الكشف على الطفرات في مورثات معينة.
- قياس نشاط المورثات.
- تحديد الجينات الهامة لإنتاج المحاصيل.
- دراسة التسلسل البنائى للمادة الوراثية.

٤) المعلومات الحيوية Bioinformatics

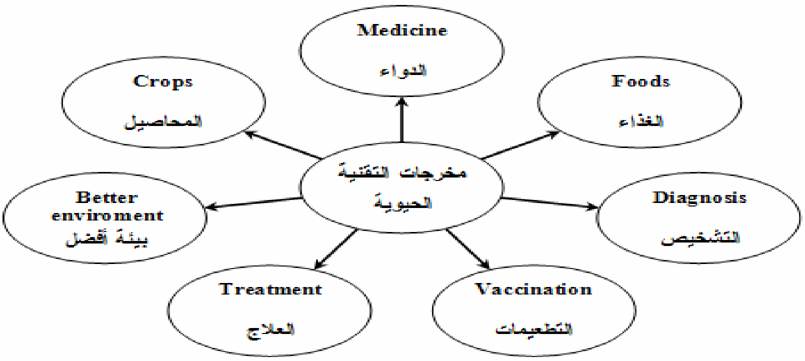
تربط هذة التقنية بين الحاسب الآلي وبرامجه بالمادة الوراثية خاصة التحليل الإحصائي، الرسم البياني، المحاكاة وقواعد البيانات والتي لها الفائدة الكبيرة في تحليل الكم الهائل من المعلومات المستقاة من المادة الوراثية.

ومن تطبيقاتها:

- رسم الخرائط الوراثية وتحديد مواقع وعدد الجينات في كل خارطة.
- تحديد شكل وبناء البروتينات.
- محاكاة طريقة ترابط وعمل البروتينات.
- إكتشاف أسباب ومواقع العلل الوراثية وتصميم العلاج المناسب.

مخرجات التقنية الحيوية Biotechnology Outputs

عند الحديث عن مخرجات التقنيات الحيوية (شكل ٤) لابد الأشارة أن كثيراً من الباحثين والعلميين يخلطون بين مخرجاتها الحالية الفعليه والمخرجات المتوقعة مستقبلاً من خلال التقارير العلمية والنشر العلمي مما جعل هناك خلطاً ولبساً أساء إلى هذا العلم في بعض الأحيان كما حدث عندما تمت تجربة إستنسال النعجة دوللي. هذا وسيتم هنا التطرق إلى أبرز



شكل ٤: أبرز مدخلات التقنية الحيوية

المخرجات الحالية والمتوقعة من التقنيات الحيوية مصنفة حسب مجالات تطبيقاتها٠

أولاً: مخرجات الرعاية الصحية Health Care

خلال المدة القصيرة المنصرمة على بداية الإنتاج للأدوية بالتقنيات الحيوية تم إنتاج أكثر من ١١٧ دواء ولقاح إستفاد منه أكثر من ٢٥٠ مليون إنسان من مختلف شعوب العالم؛ وأن ما يعادل ٧٥% من هذه الأدوية تم إقراره من إدارة الغذاء والدواء الأمريكية **FDA** في السبعة أعوام الماضية٠ كما أن هناك ما يقارب ٣٥٠ دواء ولقاح جديد في مرحلة الإختبار تمهيداً لإقراره٠ ويتوقع أن تساهم هذه الأدوية الجديدة في علاج ٢٠٠ مرض٠ كما تساهم التقنيات الحيوية في إجراء مئات الفحوص الطبية وتشخيص الأمراض بطريقة سريعة ودقيقة تحمي المجتمعات من تبعاتها المعدية والخطيرة كالإيدز٠

وفيما يلي سرد لأهم مجالات المخرجات الطبية للتقنية الحيوية:-

- علاج بعض الأمراض (مثل السرطان)٠
- إنتاج اللقاحات والتطعيمات٠
- التشخيص٠
- العلاج الجيني٠
- أبحاث الخلايا الجذعية٠
- البروتينات والجينات٠

ثانياً: الإستخدامات الزراعية Agriculture Applications

يسوق حالياً العديد من المواد الغذائية المحورة وراثياً بإستخدام التقنيات الحيوية مثل البابايا والذرة والفول السوداني والبطاطس وقد كان لها دور في تقليل إستخدام المبيدات الحشرية إضافة إلى زيادة إنتاجية المحاصيل الزراعية.

ومن المخرجات في المجال الزراعي:-

- إنتاج الغذاء كالأغذية المحورة وراثياً.
- التهجين بين الأجناس النباتية.
- المبيدات الحيوية.
- الحد من إستخدام مبيدات الحشائش.
- الحماية الطبيعية للنباتات.
- المنتجات المساعدة في التصنيع الغذائي.

ثالثاً: الإستخدامات الصناعية Industrial Applications

تم إنتاج العديد من الكيماويات في السابق إعتمادا على التقانات الحيوية مثل الأسيتون وحمض الستريك وحمض الخليك كما إعتمدت بعض المنتجات الصناعية في السابق على المشتقات البترولية غير القابلة للتحلل مما أدى إلى تلوث البيئة وزيادة المخلفات الصلبة، غير أن التقنيات الحيوية يمكن أن تسهم في تأمين بدائل أكثر عناية بالبيئة وذات علاقة بمجال المواد والطاقة. كما تنتج حاليا كثيراً من المحفزات الحيوية كالإنزيمات ً بالتقنيات الحيوية وهو ما يساعد بدوره في إنتاج مركبات كيميائية جديدة، كما يمكن تحوير المحفزات الحيوية الحالية لتكون أكثر فاعليه ونشاطاً.

ويوجد حالياً أكثر من ٤٥ إنزيماً يعمل كمحفز حيوي في مختلف التطبيقات الصناعية مثل:

▪ الكربوهيدرات	▪ **Carbohydrases**
▪ الإنزيمات المحللة للبروتينات	▪ **Proteases**
▪ الإنزيمات المحللة للببتيدات	▪ **Peptidases**
▪ الإنزيمات المحللة لليبيدات	▪ **Lipases**
▪ إنزيمات الأكسدة والإختزال	▪ **Oxireductases**
▪ إنزيمات النقل	▪ **Transferases**

رابعاً: الإستخدامات البيئة Environmental Applications

تستخدم بعض التقنيات الحيوية لتخليص البيئة من الملوثات العالقة بها والمفيد في الموضوع أن الكائنات المحورة المستخدمة لهذا الغرض يمكن أن تترك للعيش بشكل طبيعي في البيئة خاصة أماكن الملوثات وتقوم بدورها دون عناء يذكر أو تكلفة إضافية. ومن الأمثلة على ذلك تخليص الجازولين من مادة **Methyl tertiary butyl ether (MTBE)** بإستخدام البكتيريا. كما تستخدم التقانات الحيوية في التخلص من بقايا النفط في الخزانات النفطية في دول الخليج العربى.

خامساً: الإستخدامات الفضائية Space Applications

في عام ٢٠٠٠م وقعت وكالة الفضاء الإمريكية ناسا إتفاقية مع منظمة صناعة التقنية الحيوية ومعهد أبحاث السرطان الوطني إتفاقية لإستخدام التقنية الحيوية في إستكشاف الفضاء وكذلك أبحاث الجاذبية الدقيقة **Micro gravity**.

سادساً: صحة الحيوان Animal Health

تستخدم التقنية الحيوية لإنتاج عقاقير وأدوية مناسبة لعلاج الحيوانات خاصة المستخدمة كموارد غذائية للشعوب٠

سابعاً: الإستخدامات أخرى Other Applications

تجاوزت تطبيقات التقنيات الحيوية المجالات الرئيسية السابقة المشار إلى المجالات أخرى نذكر منها التالي:-

الزراعة المائية	**Aquaculture**
البصمة الوراثية	**Finger printing**
الفحوصات الجنائية	**Crimes detection**
إثبات الأبوة	**Fatherhood examination**
علم الإنسان	**Anthropology**
الأسلحة البيولوجية	**Biological weapons**

تطبيقات التقانات الحيوية فى العالم

Worldwide Applications of Biotechnology

بنظرة سريعة إلى مجالات تطبيق التقانات الحيوية وتفعيل الإستفادة منها نجد أن هناك حاجة ملحة إلى تبني برنامج واضح وواعد لإستخدام تقانة المستقبل، ولإجراء ذلك يجب علينا في الدول العربية معرفة وضعنا من تلك التقنيات وتحديد إمكاناتنا المادية والبشرية والتنسيق في ما بيننا للتعاون في التغلب على الصعوبات التي تقف حجر عثرة دون إستفادتنا من تلك التقنيات٠ ويوضح الجدول التالى ملخص وافياً لبعض الجوانب التطبيقية لهذه التقنية٠

جدول (١): الجوانب التطبيقية لهذه التقنية

المجال	أهم التطبيقات
الرعاية الصحية	١. تفعيل إستخدام تقنيات التفاعل البنائي المتسلسل **PCR** في الكشف المبكر للأمراض٠ ٢. العلاج الجيني٠ ٣. صناعة الدواء بالتقنية الحيوية كما حدث في إنتاج الأنسولين البشري٠
البيئة	١. تفعيل الإستفادة من متبقيات الزيت والحد من التلوث٠ ٢. التخلص من مخلفات الصناعة٠ ٣. الإستفادة من المخلفات العضوية٠ ٤. تدوير إستخدام المياه٠
الصناعة	١. صناعة الدواء من المواد الكيماوية النباتية المصدر٠ ٢. إستخدام الكائنات الدقيقة في تحسين خواص البترول ومشتقاته٠ ٣. إنتاج الكيماويات والمحفزات الحيوية٠
الزراعة	١. إنتاج نباتات محسنة وراثياً لمقاومة الأمراض والآفات خاصة المحاصيل الإقتصادية كالأرز والذرة والقمح٠ ٢. إنتاج نباتات محسنة وراثياً لتحمل الظروف البيئية القاسية خاصة الملوحة والجفاف لاسيما مع ظروف شح الموارد المائية٠ ٣. الإنتاج المكثف الدقيق للنباتات (زراعة الأنسجة) محليا والحد من الإستيراد للتخفيف من مشاكل إنتقال العوائل الممرضة، وإستيراد النباتات بالأنابيب بدلا من الشتلات٠ ٤. تطوير إنتاجية الحيوانات المزرعية٠ ٥. الكشف المبكر لأمراض الحيوان٠

ويمكن بإيجاز تسليط مزيداً من الضوء على تلك الفوائد والتطبيقات للتكنولوجيا الحيوية٠

فوائد التكنولوجيا الحيوية Benefits of Biotechnology

لقد أصبح للتكنولوجيا الحيوية أهداف عظيمة تحقق بعضها وجارى العمل على قدم وساق لتحقيق الباقى ولن تنتهي الطموحات التى فتحها هذا العلم لخدمة البشرية فى كافة المجالات والتى نجملها فى التالى:

أولا: في مجال تطوير المحاصيل الزراعية

Agricultural Field Development

١- إنتاج نباتات مقاومة للأمراض الفيروسية

Production of Virus – Resistant Plants

وتعد من أهم الصفات الواعدة التى تقدمها الهندسة الوراثية لتحسين الإنتاج النباتي حيث لا يوجد وسيلة مباشرة لعلاج المحاصيل المصابة بالفيروسات سوى الوقاية من الإصابة بها عن طريق الممارسات الزراعية الجيدة مثل إستخدام دورة زراعية مناسبة، التخلص من الحشائش وبقايا المحصول السابق التى تكون عائلا ثانيا للفيروس في فترة عدم وجود العائل الأساسي، إستعمال مبيدات الحشرات القاتلة للحشرات الناقلة للفيروس. وتعتمد فكرة هندسة النباتات المقاومة للأمراض الفيروسية على الدراسات السابقة في مجال الوقاية بالتحصين **Cross Protection** والتي وجدت أن عدوى النباتات بفيروسات ضعيفة تحصن النباتات إذا ما أصابها بالسلالات الأكثر ضراوة وعندما تمكن بيتش وزملاءه سنة ١٩٩٠ في جامعة واشنطن من نقل الجين المسئول عن إنتاج الغلاف البروتيني لفيروس الدخان الموازيكى **Tobaco Moasic Virus (TMV)** في نبات الطماطم حيث عبر هذا الجين عن نفسه وأنتج بروتين الغلاف الفيروسي وجد أن النباتات قاومت الإصابة الفيروسية بشدة وبذلك أثبت بتمشى صحة نظريته الإفتراضية القائلة أن بروتين غلاف **(TMV)** يضفي المقاومة على سلالات هذا

الفيروس وغيرة من الفيروسات القريبة الصلة به، وبتلك التقنية أمكن هندسة أكثر من أثنى عشر نباتا مقاوم للفيروسات٠

٢- نباتات مقاومة للحشرات **Insects Resistant Plants**

إعتمدت فكرة مقاومة الحشرات خلال الثلاثون عامًا الماضية على إنتاج بروتين تنتجه بكتيريا ***Bacillus thuringiensis*** (**Bt**) لتقوم تلك البروتينيات على قتل الحشرات٠ وإستخدمت تلك المستخلصات البروتينية **Bt** على نطاق واسع في مقاومة الحشرات حرشفية الأجنحة (الفراشات وأبى دقيق) والتي تعتبر آفات رئيسية حيث تقوم تلك البروتينات بالإرتباط بأغشية أمعاء الحشرات المستهدفة بأن يتم إنتقال الأيونات من البروتينات **Bt** إلى الخلايا الطلائية بالأمعاء فتتعطل قدرة الحشرات على التغذية فتموت٠ وتلك المبيدات الحشرية ليس لها تأثير سام على الثدييات فقط بل ولا على الأنواع الحشرية الأخرى وفاعليتها لا تدوم إلا وقتا قصيرا وبالتالي فهي آمنة بيئيا٠

ولقد تمكن المختصون فى الهندسة الوراثية فى كل من شركة كنت البلجيكية وشركة أجروجين تكس ويسكونسين واكراسيتوس ومنسانتو من عزل جينات تخص بروتينات المبيدات الحشرية وإستخدموا المسدس الجينى **Gene Gun** أو بكتيريا ***Agrobacterium tumefaciens*** فى إيلاج الجينات فى كل من الطماطم والبطاطس والقطن٠ ولقد ثبت أن وجود جينات **Bt** داخل نبات القطن قد جعله أكثر مقاومة لكل الآفات اليرقية الرئيسية بما فيها دودة اللوز وعليه يمكن أن يؤدى إستخدام تلك النباتات المهندسة إلى خفض كميات المبيدات الحشرية بنسبة ٤٠-٦٠% ولقد تم البحث عن جينات **Bt** أخرى ذات تأثير على الحشرات غير اليرقية وقد أمكن تصميم جين فعال ضد خنفساء كلورادو التى تصيب البطاطس٠ كما أمكن تصميم جين **Bt** آخر

فى شركة ميكوجين بسان دييجو بكاليفورنيا لمقاومة الإصابة بالنيماتودا، كما صمم جين فعال ضد البعوض الناقل للملاريا. وقد أكدت الإختبارات أن بروتينات **Bt** آمنة بيئيا فضلا على أن نسبة وجودها فى النباتات المهندسة وراثياً لا تتعدى ١,٠% من البروتين الكلى فى النبات المحور وهذا البروتين يتحلل تماما كأى بروتين فى القناة الهضمية.

٣- نباتات مقاومة لمبيدات الحشائش

Herbicides Resistant Plants

نظرًا لمنافسة الحشائش للنباتات الإقتصادية فى كل من الماء والغذاء وضوء الشمس فإن المحصول عادة ما يقل بنسبة ٧٠ % كما أنها تشكل مأوى للأمراض والآفات، كما أن تواجد بذورها مع غلال المحاصيل الإقتصادية يقلل من قيمتها النوعية ويزيد من تكاليف التنظيف والتنقية، لذلك يكون ضمن الممارسات الزراعية إستخدام مبيدات الحشائش.

تعتمد فكرة هندسة نباتات مقاومة لمبيد الحشائش كما قامت بها شركة مونسانتو وشركة كالجين بديفز بكاليفورنيا بزيادة قدرة النباتات على تحمل مادة **glyphosate** ، وهى المادة الفعالة فى مبيد الحشائش المسمى بالراوند اب الواسع الإنتشار فى مقاومة الحشائش عريضة الأوراق وهو من المبيدات الآمنة بيئياً حيث أنه غير مؤثر على الحيوانات التى لا تمتلك مسالك الأحماض الأمينية العطرية، ثم أنه يتحلل بسرعة فى البيئة الى مركبات طبيعية غير ضارة. وعلى أية حال، تقوم المادة الفعالة فى هذا المبيد بتثبيط فعل إنزيم ضرورى لإنتاج الأحماض الأمينية العطرية التى تحتاجها النباتات فى النمو. ولقد قام كل من **Comai** وكذلك **Stocker** بشركة كالجين وكذلك **Rogers** وأيضاً **Chesor** بشركة مونسانتو بعزل جينات تخليق إنزيم

EPSP مـن البكتيريـا والنبـات ثـم أولجـت تلـك الجينـات فـى الطمـاطم وفـول الـصويا والقطـن وغيرهـا مـن المحاصـيل لتـتمكن تلـك النباتـات مـن تحمـل الراونـداب، وبـنفس الإسـلوب تـم إنتـاج نباتـات تتحمـل أنـواع مـن المبيـدات سلفونيل يوريا **Sulfonylurea** فى شركة دوبون٠

٤- ثمار ذات جودة عالية High Quality Fruits

طور الباحثيون طريقتان لإطالة عمر ثمار الطمـاطم بطـريقتين، الأولـى تتمثـل فـى إيـلاج جينـات تـسمى مـضادات الإحـساس **Anti-sense** لجينـات النضج والمسئولة عن إنتاج الإثيلين والإنزيمات الأخرى التـى تعجل بـسرعة النضج والطـراوة ثم التعفن بـأن تنتج بروتينات تقوم بـالإرتبـاط مع الحـامض النووى **RNA** الخاص بالنضج فيمنعـه من نـسخ البروتينـات الخاصـة بـإطلاق إنزيم تعجيل النضج فتؤخر النضج وتقاوم الرخـاوة، والثانيـة فهـى إيـلاج جين يقـوم بتـصنيع إنـزيم يقـوم بتحليـل مركبـات البادئـة **Precursor** التــى تكـون الإثيلين وبذلك يتأخر النضج والطراوة ٠ وقد أمكن لشركه كـالجين من إيـلاج جـين **High Pigment Gene** وهـو الجـين المـسئول عـن إنتـاج الـصبغات الملونـة فـى الطمـاطم مثـل صـبغات الانثوسـيانين بكميـة كبيـرة ليـزداد تركيـز الصبغة فى ثمار الطماطم لكـى تتمكن ربـة المنـزل من إستخدام عدد أقل من الثمار عند الإستخدام٠

٥- نباتات ذات خصائص تغذوية فائقة

Nutritious and Specific Nature of Plants

قـد أمكـن تكـوين نباتـات تـستطيع تثبيـت الآزوت الجـوى بنقـل الجـين المـسمى **nif** والموجـود فـى بكتيريـا ***Azetobacot*** التـى تتطفـل علـى جـذور النباتـات البقوليـة٠ وقـد أمكـن فـى الماضـى نقلهـا إلـى ***Proteus vulgaris***

، *Agrobacterium tumefacien*، *Esherichia coli* وهناك محاولات فى الفلبين واليابان لنقل الجين المسبب لزيادة فاعلية هذا المخصب البيولوجى إلى نبات الارز.

ونظراً لإفتقار البروتين النباتى لبعض الأحماض الأمينية الهامة مثل الليسين والتربتوفإن كما فى الحبوب والذى يعد السبب الرئيسى لسوء التغذية فى دول العالم الثالث لذلك سعى علماء الوراثة إلى إنتاج نباتات تتوفر بها تلك الأحماض الأمينية الهامة والتى يعجز الإنسان والحيوانات وحيدة المعدة مثل صغار الحيوانات المجترة والدواجن عن تخليقها فى أجسامها لذا يتعين عليه توافرها فى غذائها. ولقد تم عزل الجينات المسئولة عن إنتاج مثل تلك الأحماض وإيلاجها فى بعض النباتات لكن لم يتم نقلها الى الحبوب الى الآن.

٦- إنتاج نباتات رباعية الكربون مهندسه وراثياً

Engineered C^4 Plants

لزيادة كفاءة التمثيل الغذائي بالنباتات، فهناك دراسات عن نقل الجين المسئول عن إنتاج إنزيم ما بحيث يؤدى الى زيادة كفاءة عملية تمثيل ثانى أكسيد الكربون بالتالي زيادة المحصول.

ثانيا: فى مجال الإنتاج الحيوانى

Field of Animal Production

وتتمثل أهمية التكنولوجيا أو التقنية الحيوية فى:

١) إنتاج حيوانات معدلة وراثياً ذات قدرة على مقاومة الأمراض وخاصة الفيروسية مثل الأرانب والإسماك والأبقار والخنازير.

٢) المعاجلة الجينية للحيوانات لزيادة سرعة نموها بتزويدها بالجين الخاص بهرمون النمو السريع وقد تم بالفعل إنتاج عدد من الخنازير الأمريكيه

والأسترالية وحيوانات المزرعة سريعة النمو وكذلك لزيادة قدرتها على إنتاج اللحم وتحسين خواصه وزيادة القدرة على إدرار اللبن.

٣) إنتاج أغنام ذات صوف عالي الجودة.

٤) تقسيم جنين الماشية والحصول على توائم ثنائية وثلاثية ورباعيه لزيادة الناتج من الثروة الحيوانية.

ثالثا: فى مجال التصنيع الزراعى

Field of Agricultural Industries

وتتمثل أهمية التكنولوجيا أو التقنية الحيوية فى:

- إنتاج الإنزيمات المستخدمة فى صناعه الألبان.
- إنتاج المبيدات الحيوية لمقاومة الكثير من الحشرات.
- إنتاج الهرمونات والإنزيمات لتحويل النشا الى سكر وإنتاج عصير ذرة سكرى.
- إنتاج الصبغات الطبيعية ومكسبات النكهة والطعم والرائحة.
- إنتاج لقاحات ضد الأمراض الدواجن مثل النيوكاسل والحمى القلاعية فى الحيوان.
- إستخدام الحيوانات والنباتات والبكتيريا كمصانع حيوية لتصنيع الدواء والبروتينيات والهرمونات والإنزيمات.
- الإستفادة من مخلفات المزرعة وتحويلها الي سماد عضوي ومخلفات الغابات من قلف ونشارة خشب وكذلك نفايات مصانع السكر وتحويلها بإستخدام بكتيريا معدلة وراثياً الى بروتين يمكن تصنيعه فى صناعات اللحوم كذلك إنتاج الغاز الحيوى من مخلفات المزرعة أيضاً الإستفادة من بروتين شرس اللبن.

- إستنباط الطاقة من النفايات بإستخدام بكتيريا تحول السيلولوز إلى مواد عضوية نيتروجينية وأخرى تحول الأحماض العضوية الى ميثان كذلك إستخدام بكتيريا مثل ***Zymononas mobilis*** التى تحول النشا الى إيثانول.

رابعا: فى مجال العلاج الطبى Field of Medical Therapy

وتتمثل أهمية التكنولوجيا أو التقنية الحيوية فى هذا المجال كما يلى:

- إنتاج لقاحات ضد الأمراض فى الإنسان مثل الملاريا.
- توصل العلماء الي تكوين بكتيريا تحتوى على جينات الإنترفيرونات البشرية **Inter ferones** وهى عبارة عن بروتينيات تعمل على وقف تضاعف الفيروسات مثل الفيروسات المسببة للإنفلونزا وشلل الأطفال وهى تنتج داخل جسم الإنسان وتنطلق لمهاجمه الفيروس وهى قد تكون مفيدة فى علاج الإيدز والسرطان.
- العلاج الجينى **Gene therapy** ولعله الحلم الذي أصبح حقيقة فى سبتمبر عام ١٩٩٠ عندما أجريت أول تجربة للعلاج الجيني علي الطفلة (أشانتي ديسيلفيا) والتي قام بها فريق من العلماء الأمريكيين بقيادة (فرنش أندرسون) والذي فتح آفاق هذا المجال الجديد في الطب والذي يفتح الأمل أمام المرضي بالعديد من الأمراض الوراثية الميئوس من علاجها. وقد كانت هذة الطفلة تعاني من نقص موروث في إنزيم **ADA** وهو أحد الإنزيمات المهمة لعمل الجهاز المناعي والذي يؤدي غيابه الي فقد قدرة الجهاز المناعي عن العمل فيصبح الطفل بدون جهاز مناعى ويموت قبل أن يبلغ الخامسة من عمره تماما مثل مريض الأيدز ولكن بدون عدوي بالفيروس. ويتم هذا العلاج الجيني من خلال اصلاح الجين المعاب من

خلال علم الهندسة الوراثية وإعادة حقنه مرة أخري في خلايا نخاع العظام الأم **Stem cells** بعد أن يحمل علي الحامض النووي لنوع من الفيروسات غير الضارة وبذلك ينتج الجهاز المناعي هذا الإنزيم ويعود الي العمل مرة أخري٠

وحتي عام ١٩٩٥ كان هناك أكثر من مائة عملية قد أجريت لعلاج بعض الأمراض الوراثية بالعلاج الجينى وهناك أكثر من ٤٠٠٠ حالة مرضية يمكن أن يستفيد أصحابها من هذا النوع من العلاج وربما كان أهم هذة الأمراض السرطان وخاصة سرطان الجلد والمثانة والكبد والثدي واللوكيميا وبعض الأمراض الخاصة لأمراض المناعة مثل مرض نقص المناعة الوراثية والأيدز وتصلب الشرايين والهيموفيليا والروماتويد٠

ويعتقد العلماء أنه بحلول عام ٢٠١٥ سيصبح علماء الوراثه قادرون على رسم خريطة كروموسوميه لكل إنسان عندما يبلغ الثامنة عشر تحتوى على كل ما يمكن أن يحدث لة من أمراض وقد يساعدة ذلك على إختيار زوجته من الناحيه الوراثيه لكى ينجب أطفال أصحاء٠ كما يمكن للاطباء التدخل بالعلاج الجينى لعلاج الجينات المعيبة عند حدوثا الإخصاب وتكوين البويضه المخصبه كما أمكن زرع خلايا لانجرهانز من البنكرياس والتى تفرز الأنسيولين فى الوريد البابى بالكبد ونجحت العمليه ويعيش صاحبها حية طبيعية بعد أن تجنب الإصابة بأمراض الفشل الكلوى وقصور الشرايين وإلتهاب الأعصاب وضعف النظر٠ وهناك علم جديد يسمى علم هندسة الأنسجة تعتمد فكرته على زراعة خلايا معينه مثل خلايا الكبد فى نوع خاص من رقائق البلاستيك أو البوليمرات الذي يعتبر وسط مناسب مع توفير المناخ والغذاء المناسب فتنمو الخلايا حتى تملئ الفراغ البلاستيكي فيتم زراعته دون أن يرفضه الجسم٠

وقد أجرى بعض العلماء دراسات على جين يساعد الخلايا علي إنتاج هرمون اللبتين الذي يزداد إنتاجه بزيادة السمنة ويعتقد العلماء أن هذا الهرمون يسير في الدم الي مركز تنظيم الشهية في المخ فإذا زادت نسبة السمنة بالجسم أصدر المخ إشارة الي الجسم للتوقف عن الأكل والآمل إستخدامه فى علاج السمنة أمر ممكن فى القريب العاجل٠ وكذلك تحضير فاكسينات للقضاء نهائياً على الحساسية بإستخدام الهندسة الوراثية٠

خامسا: مقاومة التلوث البيئي

Environmental Pollution Control

ويتم ذلك من خلال:

- إنتاج بكتيريا محللة لفضلات مياه المجارى٠
- إنتاج البكتيريا لبروتينيات تغلف المواد الضارة بالبيئة مثل مركب **DDT**٠
- إنتاج بكتيريا تقاوم التلوث البحري بالبترول بإستخدام بكتيريا تفتت وتلتهم جزيئات البترول٠
- إنتاج بولميرات تنتجها بكتيريا يوتر وفاس تنقل الي *E. coil* ثم الي النبات٠ هذا البلاستيك الحيوى يشبة البلاستيك العادى والذى يسهل تحلله وعليه فهو بديل آمن بيئياً إكتشفه الكيميائي دوجلاس دينيس حيث وجد أن بكتيريا يوتر وفاس لها القدرة على إنتاج مادة **PHB** البلاستيكية ثم جاء دكتور كريس سومر (عالم النبات بجامعة ميتشجان) فقام بنقل جينات **PHB** ببكتيريا يوتر وفاس الي الشريط الوراثي لبعض نباتات العائلة الخردلية وهذا يمثل خطوة هامة في صناعة البوليمرات حيث أمكن لتلك النباتات إنتاج مادة **PHB** البلاستيكية٠
- إستخدام البكتيريا المحللة لمياه المجارى ليعاد إستخدامها فى رى الأشجار الخشبية٠

ومن خلال السرد السابق يمكن القول أن عدم المبادرة إلى نقل التقنية يكون له آثار سلبية على الدول النامية والشعوب الفقيرة سيؤدى إلى:

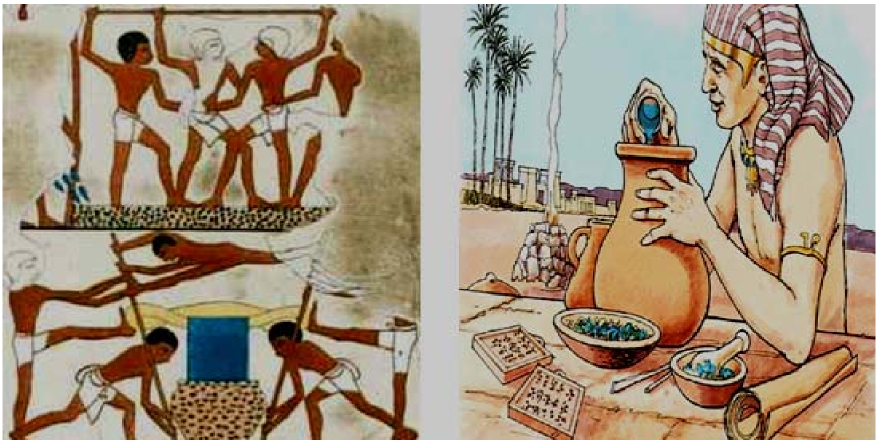
- تركيز الأبحاث بما يخدم الأغنياء خاصة في الجانب الصحي٠
- حجب التقنية مستقبلاً كما حدث في الطاقة الذرية عن تلك الدول الفقيرة٠
- عدم تسخير التقنية لعلاج المشاكل المحلية والإكتفاء بإستيراد مخرجاتها من الدول الغنية مما يجهد موازنات تلك الدول الفقيرة٠
- إرتفاع قيمة مخرجات التقنية بالنسبة لتلك الدول لإحتفاظ ملاكها بأسرارها٠

الباب الثانى

هندسة الجينات ودورها فى التكنولوجيا الحيوية

Genes Manipulation and Biotechnology

ربما تخيل المصري القديم حارس مصر وأسرارها وعلم المصريات على هيئة كائن مهندس وراثياً جسد في قوة الأسد ورأسه تحمل الحكمة والذكاء ولقد تحولت الفكرة الخيالية على يد علماء التكنولوجيا الحيوية الجزيئية إلى حقيقة عندما جمعوا بين جنس العنز والخروف، وفي سنة ١٩٨٦ ونقل هرمون النمو إلى الخنازير ونقل جين الأنسولين البشرى إلى البكتيريا٠ وربما كان أبو الهول دليل على أن قدماء المصريون هم أول من فكر في الهندسة الوراثية وربما أول من إستخدمها، فهم أول من إكتشف إستخدام الكائنات الحية الدقيقة في الصناعات الغذائية (البيوتكنولوجى) فقد إستخدموها في تخمير الخبز وعمل النبيذ من الفاكهة وتخمير الشعير وتخمير اللبن والقشدة (شكل ٥)٠



شكل ٥: تخمير الخبز وعمل النبيذ من قبل القدماء المصريين

قصة الجينات Genes History

إكتشف مندل عام١٨٦٥ قوانين الوراثة وتم نشر أبحاثه في مجلة علمية إقليمية في وطنه (النمسا) فكانت مجهولة لمعظم البيولوجيين حتى عام ١٩٠٢ عندما أعاد كل من دى فريز (هولندا) وكورينز (ألمانيا) وتشيرماك (النمسا) إكتشاف قوانين مندل من جديد٠ وأجرى العالم البريطاني جريفت

تجربه مثيرة على البكتيريا المسببة لمرض الإلتهاب الرئوي وإستنتج أن هناك مادة تنتقل من البكتيريا الممرضة الميتة إلى البكتيريا غير الممرضة الحية وهو ما يعرف بالتحول البكتيري **Bacterial transformation**٠ وكان السؤال عندئذ ما هي طبيعة المادة الوراثية المنقولة والتي سببت المرض ؟ حتى إستطاع العالم افرى وفريقه العلمي عام ١٩٤٥م من عزل المادة المسببة للتحول البكتيري وأثبت التحليل الكيميائي أن المادة المعزولة هي **DNA** وعليه أمكن تفسير التحول البكتيري على أساس أن إحدى السلالتين إمتصت **DNA** الخاص بالسلالة الأخرى وبالتالي إكتسبت الخصائص الوراثية للسلالة المنقول منها **DNA** ولكن المشكلة التي واجهها العلماء أن المادة المسببة للتحول البكتيري لم تكن نقيه وبها نسبه من البروتين لذلك لم يتوافر دليل قطعي على أن المادة المسئولة هي **DNA**٠ وبعد دراسات مستفيضة تم إستخلاص الإنزيم المحلل للمادة الوراثية **DNA** وهو إنزيم **Deoxyribonuclase** وتم معالجه المادة الوراثية المسببة للتحول البكتيري بهذا الإنزيم فتوقفت عملية التحول البكتيري، وبما أن الإنزيم لا يؤثر على البروتين إذن المادة الوراثية هي مادة **DNA** وتم قياس كميتها في مختلف الخلايا ووجد أنها تحتوى على نفس الكمية وأن الخلايا الجسمية تحتوى على ضعف الكميه التي بالخلايا التناسلية وهذه العلاقة تحقق الثبات الوراثي٠

وعند دراسة البروتين في الخلايا المختلفة وجد أن كميته تتفاوت من نسيج إلى آخر كما أن البروتين يهدم ويبنى بإستمرار في الخلية وبالتالي فهو غير ثابت ولا يحقق الثبات الوراثي لأن كميه البروتين في الخلايا الجسدية لا تساوى ضعف كميه البروتين في الخلايا التناسلية وبالتالي وفرت تلك الدراسة دليل آخر على أن المادة الوراثية هي **DNA**٠

تركيب وتنظيم الجين Gene Structure and Regulation

قسم الباحثون الجينات من حيث الوظيفة إلى ثلاثة أنواع وهى:

١- Regulator genes وهى الجينات المنظمة لعمل عديد من الجينات الأخرى والتي يطلق عليها إسم الجينات العاملة أو الفاعلة٠

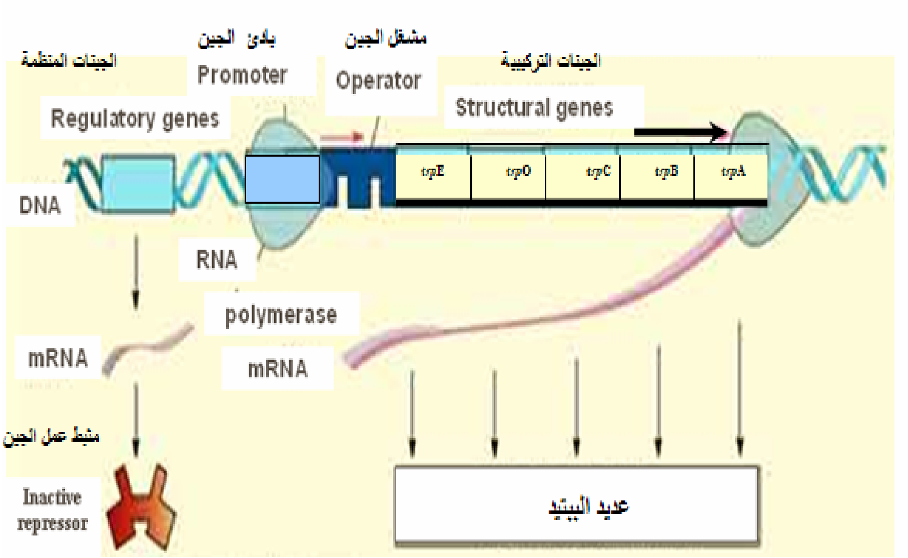
٢- Operator genes وهى الجينات العاملة التي تقوم بدور عامل التليفون وهى التي تتحكم في فتح وغلق عدد كبير من الجينات الأخرى التي يطلق عليها الجينات التركيبية Structural genes ٠

٣- Structural genes وهى الجينات المسئولة عن التركيب الخاص بالبروتينات أو ببروتين الإنزيم٠

ولقد إفترض أن تنظيم نشاط الجين يكون عن طريق الجينات العاملة أو الفاعلة Regulator genes ، حيث يتحكم في فتح أو قفل عدد من الجينات التركيبيةStructural genes والمسئولة عن إنتاج إنزيمات معينة تؤدى تفاعلات بيوكميائية معينة في سلسلة من التفاعلات ينتج عنها في النهاية ظاهرة فسيولوجية معينة٠ ويتم ذلك بأن يقوم الجين المنظم لعمل عديد من الجينات الأخرى Regulator gene بإفراز مثبط لعمل Operator genes ويطلق على هذا المثبط إسم القامع أو الكابح٠ ويفترض أن هذا المثبط Repressor عبارة عن بروتينيات تقوم بمنع الجين العامل أو الفاعل من إتاحة الفرصة لإنزيم بلمرة الحامض النووى RNA من العمل وبالتالي لا يؤدى وظيفته٠ وإقترح أن ذلك يتم بطريقتين؛ الاولى هى أن المثبط ينتج دون قدرة على التثبيط إلا فى وجود منشط Effector وعند وجوده يقوم بالإلتصاق بمنطقة Operator فيمنع إنزيم بلمرة الحامض النووى RNA من نسخ DNA وبالتالى لا تتم الرسالة٠ وإن الآلية الثانية للكابح تتم عن طريق تثبيطه

بمادة ذات وزن جزيء منخفض **Effector** والتي تلغى قدرة الكابح على العمل وبالتالي يصبح **genes Operator** حر تاركاً الجينات التركيبية **Structural genes** قادرة على العمل من خلال إصدارها الأوامر الخاصة بتكوين البروتين وهى الحامض النووى **mRNA** وبالتالى لإنتاج إنزيمات متخصصة لإتمام تفاعلات معينة وظهور ظاهرة فسيولوجية أو صفة أو تميز خلوي أو تكشف خلايا أو أنسجة معينة (شكل ٦)٠

وهناك نظرية تفترض أن البروتين القاعدي المعروف بالهستون والذي يحتوي على نسبة كبيرة في تركيبه على الحمضين الأمينين الأرجنين والليسين والموجود بالكروموسومات يعمل كمادة مثبطة لفصل المادة الوراثية



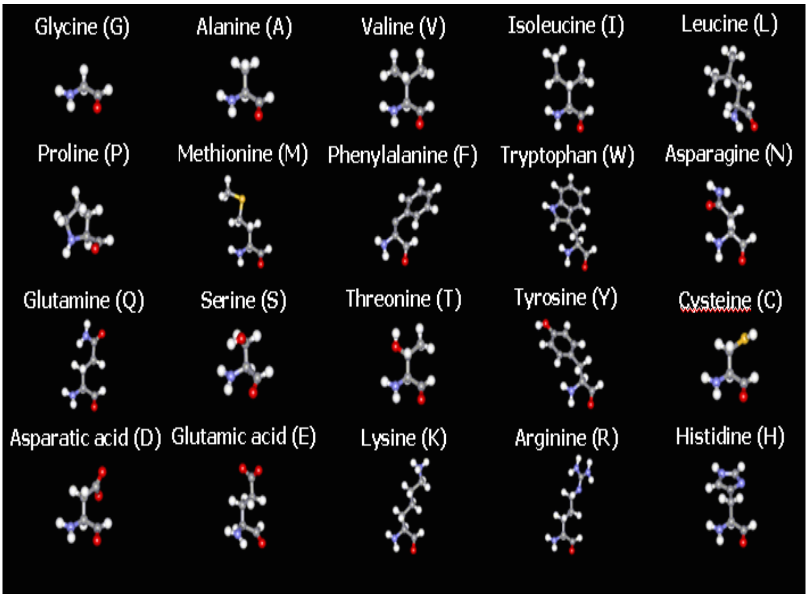
شكل ٦: تنظيم عمل الجين

إذا ما إتحد بها وبذلك ينظم فعلها من المراحل الجنينية وحتى الموت٠ ويسبق منطقة العامل أو **Operator** منطقة تسمى بمنطقة المستبدئ أو المحفز

Promoter وهى التى تحدد لإنزيم بلمرة الحامض النووى **mRNA** من أين يبدأ العمل؟

إذن الجين **Gene** هو جزء من **DNA** وهى بمثابة الحبات فى المسبحة، وللجينات لغة تخاطب بها الخلية حيث تنقل إليها رسائل تقرأها الخلية فتنفذ ما فيها من تعليمات وأوامر فى بدقة متناهية، فلغة الجينات تتآلف من أربع حروف هى A, C, T, G السابق ذكرها، أما كلماتها فتتألف من ثلاث حروف فقط من تلك الحروف الأربعة ولتلك اللغة شفرات لكى تفهمها الخلية كعلامات الترقيم والفواصل بمعنى إبدأ من هنا، توقف هنا٠ كما أن بعض الشفرات تعمل كأقواس بين الجمل ليست لها أهمية تسمى الأنترونات Introns٠ وبعض أجزاء من DNA تعمل كمنظم لعمل الجين تعرف بالجينات المنظمة كما سبق ذكره ٠ وتلك هى السيمفونية الربانية التى تعزفها الخلية لتقوم بوظائفها التى حددها الله فى صورة هذا التسلسل والتتابع الدقيق للنيوكليتيدات فيما يعرف بالحامض النووى DNA٠ وترسل النواة رسالة الى الخلية تسمى رسالة الحامض النووى RNA ليتم ترجمتها على المصنع الصغير المسمى بالرايبوسوم Ribosome فيتكون بذلك بروتيناً معينا٠ يتكون هذا البروتين من تتابع للاحماض الأمينية حيث تتباين كيميائيًا تباينًا واسعاً نتيجة تكونها من عشرين حمض أمينى يجعل هذا التباين ممكنا ويتم بناء هذا العدد الهائل من البروتينات داخل الخلية بأوامرها التى ترسلها مع الرسول وبذلك يتكون الحمض الأمينى الصحيح فى المكان الصحيح لينتهى الأمر بصناعة البروتين الذى يقوم بعضة بدور بنائى فى الخلية والبعض الآخر له دور تنظيمى أى يقوم بتنظيم سير التفاعلات الحيوية داخل الخلية٠ والبروتينات هى الوحدات المكونة للإنزيمات والتى تشبة الكماشة حيث تستطيع ربط المركبات الكيميائية معا أو تجدلها معا أو تفككها من بعضها ويتم

ذلك بدقة متناهية٠ والبروتينات هى التى تصنع الغشاء المحيط بالخلية كما تصنع الأبواب التى تسمح بدخول المركبات اليها أو خروجها منها من خلال إتحادها مع المركبات الداخلة أو الخارجة وتحور فيها حتى يمكنها الدخول أو الخروج حتى الكائنات الممرضة كالبكتيريا فإن الإنزيمات هى أسنانها التى تقوم بتمزيق مكونات الخلية وتحليلها إلى مواد أبسط لإمتصاصها والتغذية عليها٠ ومن هنا يمكن القول أن الشفرة الوراثية هى ترتيب النيوكليوتيدات Nucleotides (والتى سوف يتم التطرق إليها فيما بعد) في جزئ الحامض النووى mRNA الذي يذهب إلي الرايبوسوم حيث يترجم الي تتابع للأحماض الأمينية في سلسلة عديد الببتيد الذي يكون بروتينًا ما٠ وكان معروف في بداية تفكير العلماء عن الشفرة الوراثية أن عدد الأحماض الأمينية الموجودة في الطبيعة عشرون حمضًا وعدد القواعد النيتروجينيه الداخلة في تركيب جميع النيوكليوتيدات أربعة هم أدينين (A)، جوانين (G) سيتوسين (C)، ثيامين (T)٠ وللحصول علي لغة وراثية سليمة لابد من أن تشكل حروف هذه اللغة (القواعد النيتروجينية الأربعة) عشرين كلمة(الأحماض الأمينية)، وبالتالي الكلمة الوراثية (الحمض الأميني) إما أن يتكون من حرف أو حرفين أو ثلاثة أحرف أو أكثر ومنطقي إستحالة تكون الكلمة الوراثية من حرف واحد (قاعدة نيتروجينيه واحدة) لإن معنى ذلك أن عدد الأحماض الأمينيه هو أربعه فقط وهذا مناف للواقع حيث أن عددهم هو عشرون ولو كانت اللغة ثنائية الحروف ٤ ٢=١٦ حمض أميني وهو أقل من العدد المطلوب (شكل ٧)٠ إذن الشفرة الوراثية تتكون من ثلاثة حروف ٤ ٣ =٦٤ حمض أميني أي أكثر من العدد الموجود فعلا من الأحماض الأمينية، وبالرغم من ذلك فإن هذا العدد رغم أنه يزيد عن العدد الفعلي للأحماض الأمينية إلا أنه يعتبر أصغر مجال نظري لكلمة شفرة٠

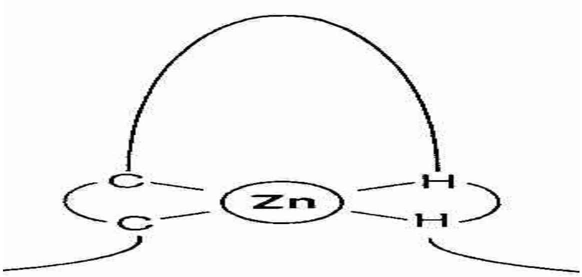


شكل ٧: الأحماض الأمينية الموجودة في الطبيعة

ففي عام ١٩٦٥م عندما تم التوصل الي الشفرة الخاصة بكل حمض أميني والتي يطلق عليها إسم كودونات **Codons** تأكد بعد ذلك أن هناك أكثر من شفرة لكل حمض أمينى٠ أيضاً هناك كودونات توقف آلية بناء البروتين٠ كما أن هناك كودون بداية، أي يعطي الإشارة للنقطة التي يبدأ عندها بداية آلية جديدة لصنع بروتين جديد٠ ومما أظهرته الدراسات علي الشفرة الوراثية أنها عامة أو كونية بمعني أن الأحماض الأمينية في الكائنات المختلفة لها نفس الشفرة فمثلا الحمض الأميني الجليسين في جميع الكائنات الحية يتواجد بشفرته المعروفة **GGU, GGC, GGA**٠ ويتم توزيع الجينات علي الكروموسوم بشكل مقنن وليس عشوائياً وهذا التحديد يتم بواسطة المسافات الفاصلة بين الجينات علي الكروموسوم٠

تنشيط الجين Gene Activation

لتنشيط أى جين لا بد من وجود عدداً من البروتينيات تعرف بعوامل النسخ **Transcription factors** التى ترتبط بجزئ من الجين يدعى المنشط أو المعزز **Promoter** ليتمكن باقى الجين من التعبير عن نفسه فى بدء عمل نسخ الحامض النووى الرسول **mRNA** المسئولة عن إنتاج الإنزيم والذى يقوم بإتمام التفاعل الحيوى وإظهار الصفة المحددة وعليه فإن عامل النسخ هذا هو بمثابة مفتاح التشغيل للجين **On-gene**٠ وكان العلماء يفكرون فى الوسيلة التى يهتدى بها عامل النسخ هذا للوصول الى الجزء المنشط أو المعزز للجين حتى أمكنهم من فك اللغز عندما وجدوا أن أحد عوامل النسخ يحتوى على نتوءات عرفت فيما بعد بإسم أصابع الزنك **Zinc fingers** والتى وجد أنها وسيلة لتعرف على الجزء الخاص من الجين والمسئول عن تنشيطه (شكل ٨)٠



Cys – His Zink finger

شكل ٨: أصابع الزنك

إكتشف كلاك أصابع الزنك عام ١٩٨٥ ووجد إنها عبارة عن متواليات من أحماض أمينية تستطيع الإنطواء حول أيون الزنك ولقد إكتشفت أصابع

الزنك عندما حللت تتابعات الأحماض الأمينية فى إحدى عوامل النسخ ووجد أن هناك ترتيب خاص لتتابع الأحماض الأمينية فى تسع تتابعات أو قطع متعاقبة أو وحدات متتالية مرقمة من ١-٩ بينهما تشابهات مهمة حيث تتشابه أو تتطابق وجود زوج من الأحماض السيستيئينية (C) وزوجا من الأحماض الهيستيدينية (H) وإن زوجى السيستيئين والهيستيدين فى كل وحدة بنائية ينضمان الى أيون الزنك مما يجعل الأحماض الأمينية الموجودة بينهما تتخلق٠

كما وجد من الدراسات المكثفة سنة ١٩٩١ بإستخدام الرنين المغناطيسى أنه لكى تستطيع أصابع الزنك الإتصال بجزىء **DNA** لا بد لها من إستعمال إصبعين على الأقل لكى يتعلق البروتين بصندوق **TATA** بقوة كافية وتعتبر أصابع الزنك رؤوس قارئة **Reading heads** تتصل ببعضها بوصلات مرنة، كما وجد أن حمض أمينى معين (**E, G, A**) يتصل مع قاعدة نيتروجينية واحدة من الزوج القاعدى على **DNA** بالمجموعات الفوسفاتية فى سلاسل السكر والفوسفات التى تكون جانبى سلم **DNA**٠ ونظراً لأن الجين فى الخلايا مميزة النواة **eukaryotes** لا يتكون من تتابعات شفرية مستمرة بل تتخلله تتابعات غير شفرية طويلة بعكس جينات أولية النواة **prokaryotes** فتسمى التتابعات التى تمثل بإسم الأكسونات **Exons** وتسمى التتابعات التى تعرف بإسم الأنترونات **Introns** ثم توصل الأكسونات ببعضها الحامض النووى **RNA splicing** حيث تنبعج الأنترونات للخارج فى شكل عروات قبل إستبعادها٠

وتأتى مرحلة تعديل وتجهيز نسخة الحامض النووى **RNA** حيث تعرف جزيئات الحامض النووى **RNA** غير المتجانسة بإسم الحامض النووى **nhRNA** فيتم إضافة قلنسوة الجوانين المميثلة **G-methylated**

حيث ان للقلنسوة دور فى بناء البروتين عندما ينتقل الى nucleotide الرابيوسومات كما يبدو أنها تقوم بحماية النسخة النامية من الحامض النووى RNA من عملية التحلل والهدم، ويضاف لجزئ الحامض النووى nhRNA ذيل عديد الادنيين **Poly A Tail** قاعدة الادينوسين يقوم بها إنزيم خاص يسمى**Poly A- Polymerase** ويبدو أن للذيل وظيفة تسهيل خروج الحامض النووى **mRNA** من النواة الى السيتوبلازم ويؤخر هدمه فى السيتوبلازم ليتيح الدخول فى أكثر من دورة من دورات الترجمة٠

آلية عمل الجينات Gene Mechanism

والآن يأتي السؤال الهام وهو كيف يمكن لعلماء البيولوجيا الجزيئية فهم كيفية عمل الجينات؟ لذا إستخدم مهندسوا الوراثة تقنية سميت إستبدال الجينات المستهدفة **gene targeting** وفية يتم إستحداث لطفرة وإستبدالها بجين سوى داخل إحدى الخلايا الجذعية المشتقة من الجنين **Embryo - derived stem cells** من أجنة الفئران ثم إدخالها فى خلايا جنين الفأر فتكون بذلك أجنة معطلة الجين المستهدف **knocked out** فإذا أدى ذلك الى إحداث تشوه فى مخ الفأر كان ذلك دليل على مسئولية هذا الجين عن تكوين المخ٠ ولقد أصبحت تقنية الإستهداف الجينى تقنية مثيرة وهامة عندما إستخدم فى مشروع الجينوم البشرى لكشف أسرار الجينات المسئولة عن الأمراض الوراثية حيث ان دراسة تسلسل النيكلوتيدات للجين لا يفسر وظيفته فى حياة الكائن الحى٠

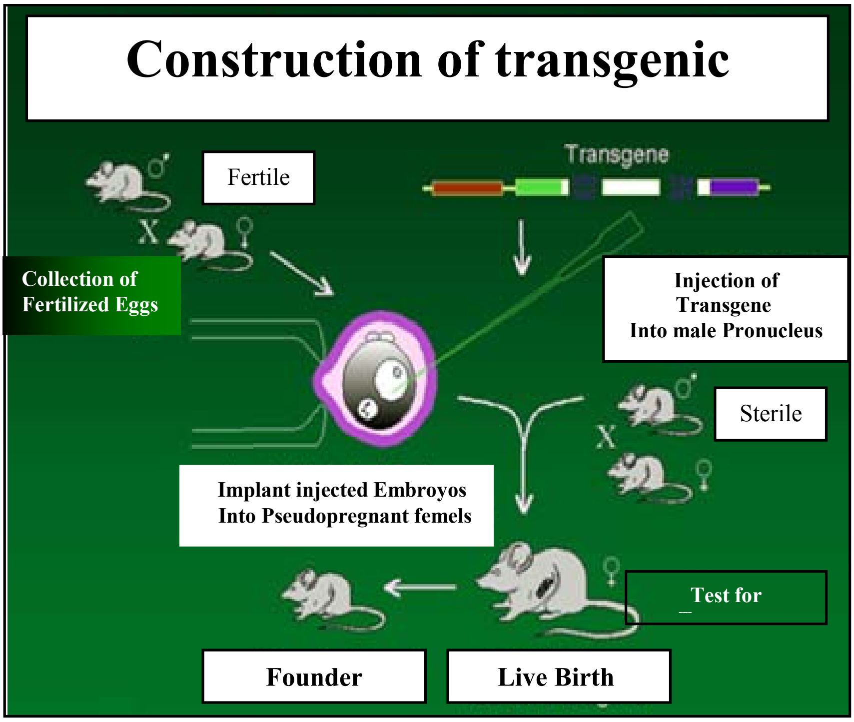
على أيه حال تبدأ التقنية بعزل جين من الخلايا الجذعية المشتقة من الجنين **(Embryo-derived stem cells (ES** والمراد دراسة وظيفته ويحور ذلك الجين لإنتاج جين طافر يتم إستبداله بالجين السوى ويكون ذلك

عن طريق إيلاج جين مقاوم للنيوميسين **neomycin resistance (neo r)** وذلك لتسهيل أمر العثور عن الخلايا التى تم الإيلاج فيها ويسمى هذا الجزء من الجين بالواسم الموجب، كما يضاف للجين جزء آخر يسمى بجين الثياميدين كيناز **tk** ويعتبر واسم ثانى ويعرف بالواسم السلبى حيث أن هذا الجين يسبب حساسية للخلايا الحاضنة له ضد المضاد الحيوى الكانسيكلوفير٠ وبعد تصميم الجين الطافر هذا يتم تحميلة على ناقل مناسب مثل بلازميد القولون حيث يتم إدخال الناقل الى خلايا جنين الفأر الجذعية (**ES**) فيقوم الناقل:

- إما بنقل الجين الطافر بدلا من الجين السوى (المستهدف) على كروموسوم من كروموسومات خلايا الفأر الجنينية وفى هذه الحالة سوف يتم إستبدال الجين السوى بجين مشابه مع إحتوائه على الجزء الخاص بجين **neo r** فى منتصفه دون الجزء الخاص بال **tk** وذلك لأن إنزيم القطع المحدد سوف يتعرف على الجين المستهدف فقط بمعنى معرفة تسلسل البداية والنهاية له٠
- أو بنقل الجين المستهدف بطريقة عشوائية ويتم نقل الجين الطافر كله أى بالواسمة الثانية والخاصة بالـ **tk**٠
- أو لا يتم الإيلاج أصلاً فى الخلايا٠

ولعزل الخلايا التى تحمل الطفرة المستهدفة يتم وضع الخلايا كلها فى وسط يحتوى على عقارين أحدهما مضاد المينوميسين المعروف بإسم **G418** والثانى مضاد الكانسيكلوفير فيقوم المضاد الأول بقتل الخلايا التى لا تحتوى على الجين الطافر فيقضى على الخلايا التى لم يحدث لها إنتقال للجين المستهدف أما العقار الثانى فهو مميت للخلايا التى إنتقل إليها الجين الطافر عشوائيا والحاوي على القطعة الثانية الخاصة بالجين **tk** والمسببة للحساسية

للمضاد الحيوى الثانى. وعليه يتم الحصول على الخلايا المطلوبة والتى هندست وراثياً فإذا كانت مأخوذة من فأر بنى اللون، يتم إيلاج تلك الخلايا داخل خلايا جنينية وهى فى طور الكيسية الأريمية (البلاستولة) لأنثى فأر أسود اللون ثم ننقل الخلايا الجنينية الى رحم أم بديلة حيث تنمو وتكون النسل (شكل ٩).



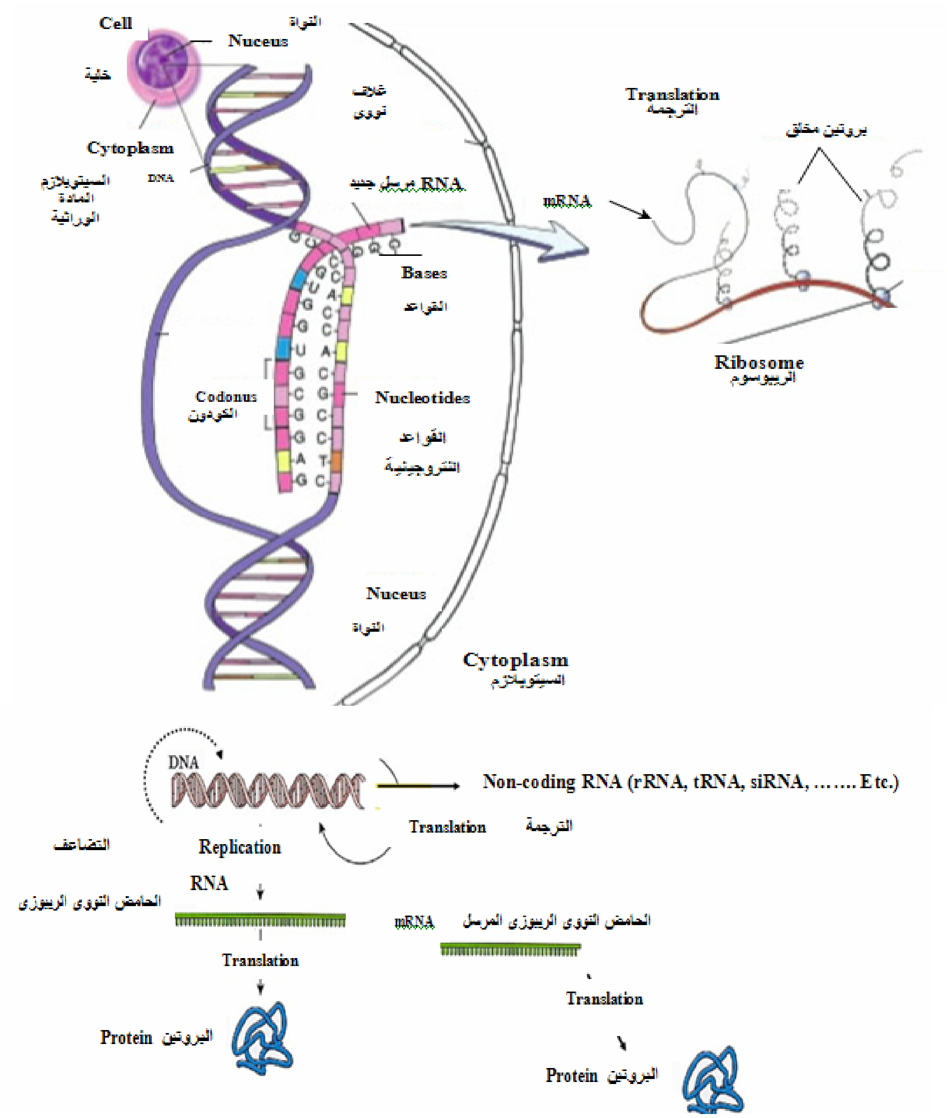
شكل ٩: كيفية الحصول على فئران محورة وراثياً

وتفحص الفئران للحصول على الفأر المحتوى على ظلال بنية ممزوجة باللون الأسود لتشير تلك الصفة على أنة الفأر المطلوب والحاوى على خلايا **ES** المهندسة وتعرف تلك الفئران بالفئران الكيميرية (الخليطة) **Chimeras**، وبعد ذلك يتم تزاوج الذكور الكيميرية (الخليطة) مع إناث

سوداء ويختبر النسل **Progeny** بحثا عن الطفرة المستهدفة ويستبعد الفار الأسود والبنى ويستمر فى تزاوج الذكور والإناث الباقية لتلد فئران تحمل الطفرة بصورة نقية أى نسختين من الجين الطافر فتظهر عندئذ الشذوذ الجسدى أو المرضى لنتعرف على وظيفة الجين المستهدف٠

التخليق الحيوى أو بناء البروتين Protein Synthesis

تحتوى الخلية على مجموعة من الحامض النووى الناقل **tRNA** وهي عبارة عن جزيئات من الأحماض النووية الرايبوسومية صغيرة الطول (٧٠- ٩٠) نيوكليتيدة يسمح بتركيب جزئ الحامض النووى **tRNA** بوجود موقعين نوعيين يمكن لإحدهما أن يتعرف على االحمض الأمينى ويرتبط به بمساعدة إنزيم نوعى يسمى الحامض النووى **tRNA synthetase** في حين يقوم الموقع الآخر وهو المحتوى على الكودون المضاد والذي يحتوى على ثلاث قواعد بالتعرف على الكودون الموجود في تتابع جزئ الحامض النووى **mRNA** مما يسمح للأحماض الأمينية أن تصطف طبقا لهذا التتابع النيوكليتيدى٠ ويوجد لكل حمض أميني الحامض النووى **tRNA** أو أكثر والذى يعد بمثابة عربة لنقل لأحماض الأمينية من السيتوبلازم إلى الرابيوسوم حيث يتحد الحمض الأمينى والمعين مع أحدى نهايتي الحمض النووي الرابيوسومى في حين يتم التزاوج الصحيح بين الكودون ومضاد الكودون بالروابط الهيدروجينية، وعليه يقوم الحامض النووى **tRNA** بدور أساسي كوسيط في عملية الترجمة أو يقوم بتحويل تتابع النيوكلتيدات إلى تتابع من الأحماض الأمينية وفي نفس الوقت يتم تكوين رابطة ذات طاقة عالية عند النهاية الكربوكسيلية لهذا الحمض بحيث يمكنها أن تتفاعل مع المجموعة الأمينية للحامض الأمينى التالي (شكل ١٠)٠



شكل ١٠: نباء البروتين

ويتم نسخ الحامض النووى **RNA** أى الرسالة التى ترسلها النواة الى الخلية بدرجة إنتقائية حيث يحدث نسخ جزئي فقط لتتابعات معينة من **DNA**

الجين لإنتاج الحامض النووى **mRNA** مع بقاء نسبة صغيرة فقط يتم على التتابعات المنسوخة عمليات تجهيز وتعديل وحذف لتتابعات من الحامض النووى **RNA** النووى قبل خروجها النهائى الى السيتوبلازم. وتنتقى النواة جينات معينة لنسخها لتقوم بوظائف محددة تبعا لنوع الخلية ومكانتها ووظيفتها فى النسيج أو العضو لذلك فإنزيمات بلمرة الحامض النووى **RNA** لابد لها من التعرف على منطقة المستبدئ أو المحفز الموجودة فى الجين والمعروفة بإسم **Promoter** عن طريق إرتباط بروتينات نوعية مع تتبعات معينة من **DNA** القالب لتنشيط المحفز. ويطلق على تلك البروتينات النوعية إسم عوامل النسخ **Transcription factors** كما سبق ذكره، وهى بمثابة مفتاح التشغيل لبدء التناسخ، وتبحث عوامل النسخ على تتابع معين يعرف بصندوق **TATA** يتم التعرف عليه بإستخدام أصابع الزنك فى عامل النسخ ويكون عادة على بعد ٢٥٠ قاعدة من موقع بدء النسخ، فيؤدى عامل النسخ على تحفير النشاط النسخى لإنزيمات بلمرة الحامض النووى **RNA** وينتج سلسلة الحامض النووى **RNA** من عدد من الوحدات يتراوح عددها بين ٨٠٠٠-٢٠٠٠٠ نيكلوتيدة وهى أطول كثيراً من طول الحامض النووى **mRNA** الذى يكون البروتين (١٢٠٠ نيكلوتيدة تشفر لحوالى ٤٠٠ حمض أمينى ليكون سلسلة البروتين).

والسؤال الآن كيف يتسنى لإنزيم **Aminoacyl-tRNA synthetase** ربط الحامض النووى **tRNA** بالحمض الأميني المعين والتوفيق بين الحمض الأميني الصحيح وبين الحامض النووى **tRNA** النوعي الخاص وخاصة للأحماض الأمينية المتشابهة التركيب حيث يقوم الإنزيم بالتفرقة بين الأحماض الأمينية تبعا للمراكز النشطة له وكذلك التفاته حول الحامض النووى **tRNA** الملائم. ويدخل في بناء البروتين الرابيوسومات وهي بمثابة

أنوال يتكون عليها البروتين ويتكون جسم الرايبوسوم الذي يظهر كحبيبات على الشبكة الأندوبلازمية من الحامض النووى **RNA** الرايبوسومى من تحت وحدتين أحدهما كبيرة والآخرى أصغر ويبدأ تخليق البروتين عندما ترتبط تحت وحدة رابيوسومية بجزئ الحامض النووى **mRNA** الذي يكون له أول كودون **AUG** وهو كودون أو شفرة البدأ للترجمة وتكوين سلسلة عديد الببتيد أو البروتين التي ستبنى، ثم ترتبط تحت وحدة ريبوسوم كبيرة بالمركب السابق وعندئذ تبدأ تفاعلات بناء البروتين٠ ويوجد على الرايبوسوم موقعين

يمكن أن ترتبط بهما جزيئات الحامض النووى **tRNA** أحدهما يطلق عليه موقع الببتيديل **P** والثاني يطلق عليه الموقع أمينو أسيل **A** وتبدأ سلسلة عديد الببتيد في الإستطالة في دورة تتكون من ثلاث خطوات٠

يرتبط مضاد الكودون الحامض النووى **tRNA** بالكودون التالي على جزئ الحامض النووى **mRNA** وبالتالي يصبح الحمض الأميني الذي يحمله الحامض النووى **tRNA** الحمض الأميني التالي في السلسلة عديد الببتيد، ثم حدوث تفاعل نقل الببتيديل الذي ينتج عنه رابطة ببتيدية بعده يكون **t**الحامض النووى **RNA** الأول فارغا ويترك الرايبوسوم، أما الحامض النووى **tRNA** الثاني فيحمل الحمض الأميني له مع الحمض الأميني الأول (المثيونين)٠ ويتحرك الرايبوسوم على إمتداد الحامض النووى **mRNA** فينتقل الحامض النووى **tRNA** حاملا الحمض أو الحمضين الأمينين إلى الموقع **P** ويدخل إلى الموقع **A** كودون جديد وهو التالي ثم تبدأ الدورة مرة أخرى مكونة الحمض الأميني الثالث وهكذا يتكرر الأمر٠ وتقف عملية البناء عندما يصل الرايبوسوم إلى كودون وقف البناء على الحامض النووى **mRNA** وهناك بروتين يرتبط بكودون الإيقاف يسمى عامل الإطلاق **Release factor** حيث يحرر الرايبوسوم من الحامض النووى **RNA** الرسول (شكل ١٠)٠

يمكن أن يقود تسلسل الأحماض الأمينية إلى بروتينات ذات أشكال متشابهة ولقد وضعت حديثا مجموعة دولية من علماء البيولوجيا التركيبية **Structural Biologists** برنامجًا عرف بمبادرة بناء البروتين **Protein Structure Initiative** ليحل محل البروتينات إما من خلال صنع بلورات نقية جداً من بروتين ما ثم قذف هذه البلورات بالأشعة السينية أو من خلال دراسة البروتين بتحليل طيف الرنين المغناطيسي النووي **Nuclear Resonance Magnetic**٠

وعند إستعمال المعلومات عن البناء ذات الصلة من أجل جمع البروتينات في عائلات تتشارك على الأرجح في السمات الهندسية التركيبية ثم إستهداف بروتينات ممثلة لكل عائلة لدراستها بالتقنيات الفيزيائية المجهدة **Painstaking Physical Techniques**٠ وقد يستطيعوا في المستقبل القريب وضع نماذج البروتين المدروسة في صورة برامج على أجهزة الحاسب الآلي من اجل عمل برنامج حاسوبي لنمذجة البروتين وإبتكار أشكال لطي البروتينات، ويتصور العلماء وجود ١٠٠٠ صورة أساسية لطريقة طي البروتين٠

هذا وسوف نلقى بمزيد من الضوء على البنية الأساسية للمادة الوراثية كما يلى:

الأحماض النووية Nucleic Acids

تلقى الأحماض النووية عظيم الإهتمام في الدراسات والبحوث في الحقبة الحالية، لما أحدثته من ثورة في العلوم البيولوجية، فرصدت لأبحاثها مليارات الدولارات وأنشأت من أجلها العديد من المعامل البحثية والمنح الدراسية وصدرت لدراساتها المجلات العلمية المتخصصة، وقد أدت الأبحاث

فيها إلى تقنيات فريدة جمع بعضها تحت إسم الهندسة الوراثية **Genetic Engineering**، ثم تطورت إلى أن أصبحت البيولوجيا الجزيئية **Molecular Biology** كعلماً قائما بذاته يتناول آفاقا غير مسبوقة في أساليب البحث وتقنياته وأهدافه، وإرتبط ذلك ببعض جوانب التكنولوجيا الحيوية **Biotechnology**٠ وكان لذلك آثارا تطبيقية ذات مردود إقتصادي في مجالات مختلفة منها الإنتاج الزراعي والحيواني سواء من ناحية الكم أو النوع، كما دفعت هذه الدراسات بالفكر البشرى إلى منحنى جديد٠ ولا شك أن هذه الثورة العلمية التي نعيشها الآن في مجال دراسات الأحماض النووية والتى سيكون لها أبلغ الأثر فى حياة الإنسان في القرن الحادي والعشرين٠

أنواع الأحماض النووية Types of Nucleic Acids

١- حامض الديوكسى رايبونيوكلييك (**Deoxyribonucleic acid (DNA**

٢- حامض الرايبونيوكلييك (**Ribonucleic acid (RNA**

ويوجد ثلاثة أنواع من الحامض النووى **RNA** وهي:

أ- الحامض النووى الرسول **mRNA**

ب- الحامض النووى الناقل **tRNA**

ج- الحامض النووى الرايبوسومي **rRNA**

وقبل التطرق بشئ من التفاصيل إلى وظيفة تلك الأنواع من الأحماض النووية، يجب معرفة أهم الفروق بين تلك الأحماض فى الجدول التالى٠

جدول (٢): الفرق بين الحامض النووى DNA والحامض النووى RNA

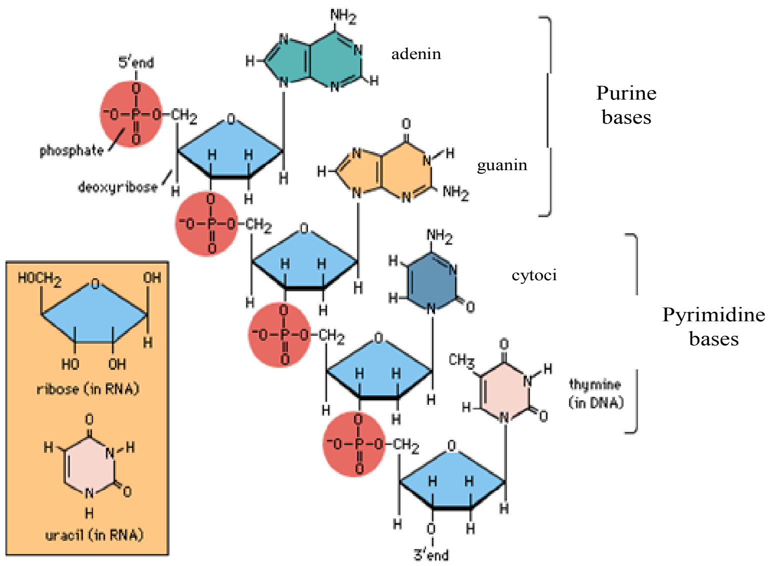
وجه المقارنة	الحامض النووى DNA	الحامض النووى RNA
وجوده	النواة	النواة والسيتوبلازم
الوظيفة	المادة الوراثية ومكون للكروموسومات	يساعد **DNA** في الوظيفة
أنواعه	ليس له أنواع	الحامض النووى الراسل **mRNA**، الحامض النووى الناقل **tRNA** ، الحامض النووى الرايبوسومي **rRNA**
السكر الخماسي	الديوكسى رايبوز	الرايبوز
القواعد النيتروجينية	الأدينين – الثايمين الجوانين - السيتوسين	الأدينين – اليوراسيل الجوانين – السيتوسين
الشكل	ثنائي حلزون الشكل **(Double helix)** سلسلتين من متعدد النيوكليوتيدات	خيط واحد النيوكليوتيدات المتعددة

حامض الديوكسى رايبونيوكلييك

Deoxyribonucleic Acid (DNA)

وهو من المكونات الأساسية للكروموسومات وهو يمثل المادة الوراثية لمعظم الكائنات الحية، وهي المادة الموجهة لعمليات إنتقال الصفات الوراثية من الآباء للذرية. وفي عام ١٩٥٤، قدم البيولوجيان واطسون **James Watson** (الأمريكي) وكريك **Francis Crick** (البريطاني) بالتعاون مع

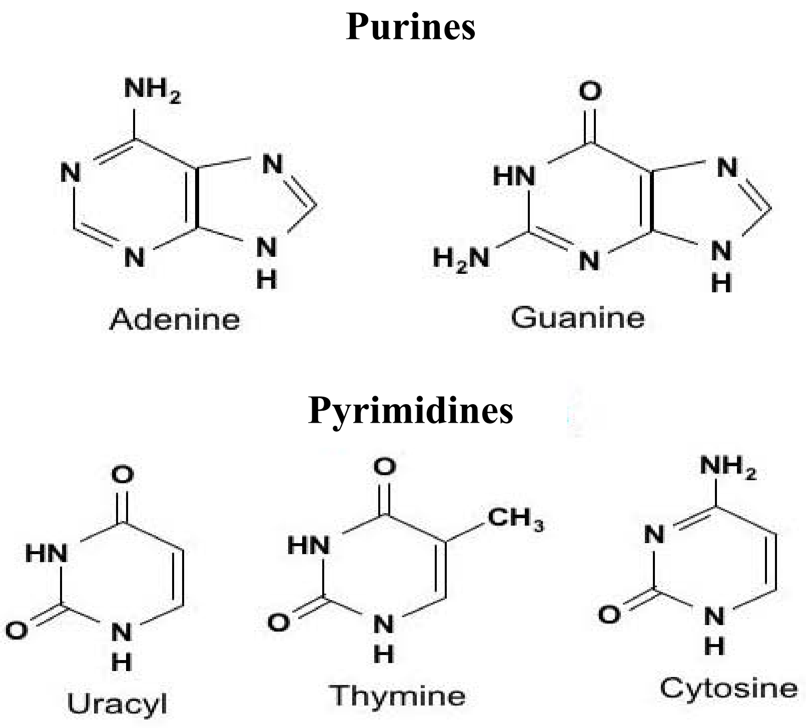
عـالم الفيزيـاء الحيويـة ولكنز Maurice Wilkins (النيوزلندي) فـي جامعة كمبريدج بإنجلترا نموذجا يوضح التركيب الجزيئي لحمض DNA٠ ومن أجل هذا الإنجـاز العلمـي الكبيـر تـم منحهمـا جـائزة نوبـل فـي الطـب وعلـم وظـائف الأعضاء عام ١٩٦٢٠وحسب هذا النموذج تترتـب النيوكليوتيدات على صـورة شريطين two strands متكاملين complementary (شكل ١١)٠



شكل ١١: التركيب الجزيئى للمادة الوراثية فى شريط DNA

ويلتفا حول بعضهما فيكونـان حلزونـا مزدوجا double helix طـويلا سمكه ٢ نـانومتر، وطول اللفة الكاملـة منـه ٣٤ نـانومتر ويتكون جزئ الحمض من عدة آلاف من هذه اللفات٠ ويمكن تشبيه الجزيء بالسلم، حيث يتكون كـلاً مـن جانبيـه مـن سلسلة مـن جزيئـات الـسكر والفوسفات المتبادلـة بينمـا تتكـون الـدرجات Rungs or Steps فيـه (والتـي تـربط بـين الجـانبين) من القواعد النيتروجينيـة، والمـسافة بـين الجـانبين ثابتـة وتـسمح بالـضبط بوجـود قاعـدة

نيتروجينيـة أحاديـة الحلقـة مرتبطـة مـع قاعـدة أخـرى ثنائيـة الحلقـة، والقواعـد النيتروجينية كما سبق القول علـى طـرازين: أحدهما هو البيوريـنـات **Purines** وهـى مركبـات عـضوية ثنائيـة الحلقـات وهـى الأدينـين **Adenine** و الجـوانين **Guanine**، أمــا الطــراز الثــانى فهــو البيريميــدينات **Pyrimidines** وهــى مركبـات عـضوية أحاديـة الحلقـة وهـى الثـايمين **Thymine** والسيتوسين **Cytosine** وينـتظم الجـزىء بحيـث يـرتبط الجـوانين مـع الـسيتوسين ويـرتبط الأدينين مع الثايمين (شكل ١٢)٠



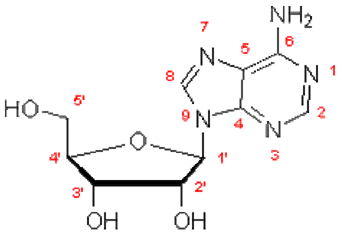
شكل ١٢: أنواع القواعد النتروجينية المختلفة فى شريط DNA

ويلاحظ أن الأدينين والثايمين يرتبطـان برابطتين هيدروجينيتين بينما الجوانين والسيتوسين يرتبطـان بثلاث مـن هذه الروابط• وعلـى ذلـك فالطاقة اللازمة لكسر الجوانين عن السيتوسين أكثر من تلك اللازمة لكسر الأدينـين عن الثـايمين• ويلاحظ أن هذا الشكل السلمي يتحلـزن علـى نفسه ليكـون مـا يسمى بـالحلزون المـزدوج **double helix**• وتمثـل النيوكليوتيـدات **Nucleotides** الوحـدات البنائيـة لجـزئ الحمـض النـووي (الوحـدة التركيبيـة فـي الأحمـاض النووية هي النيوكليوتيدة)• وتتركب كل نيوكليوتيدة من جزئ سكر خماسي يـرتبط مـن ناحيـة ذرة الكربـون رقـم ٥ بمجموعـة الفوسـفات• ومـن ناحيـة ذرة الكربـون رقـم ١ بقاعـدة نيتروجينيـة ويتكـون جـزئ **DNA** مـن آلاف مـن هـذه النيوكليوتيدات• ومن المعروف أن ذرات الكربون فـى جـزىء السـكر الخماسـى يعطـى لكـل منهـا رقمـاً معينـا يحـدد موقعهـا، ويلاحـظ أن القواعـد النيتروجينيـة تتـصل بـذرة الكربـون رقـم ١ فـى السـكر الخماسـى وأن الـروابط الكميائيـة بـين السـكر والقواعـد النيتروجينيـة وبـين السـكر ومجموعـات الفوسـفات هـى روابـط تـساهمية **covalent bonds** كمـا يلاحـظ أن مجموعـة الفوسـفات تتـصل بـذرة الكربون رقم ٥ لجزىء السكر من طرف بينمـا تتصل من الطرف الآخر بذرة الكربون رقم ٣ فى جزىء السكر التالي، كمـا أن مجموعتى الفوسفات المتصلة بـذرة الكربـون رقـم ٥ فـى السـكر الخماسـى فـى كـل نيوكليوتيـدين متقـابلتين فـى شريط (**DNA**) تكونا متعاكستين في الإتجاه•

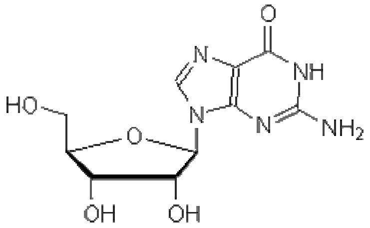
ومما تقدم ندرك أنه إذا كان تتابع القواعد النيتروجينية فـى الجزىء من أحد الشريطين**'3 TCCAA '5**، فإن قطعـة الشريط الآخر التـى تتكامـل معهـا يكون ترتيب قواعدها النيتروجينية **'5 AGGTT '3** ويتضح من ذلك أن شـريطي جـزىء **DNA** متوازيـان عكسيا **antibarallel** حيـث أن الطـرف **'3**لأحـد الـشريطين والطـرف **'5** للـشريط الاخـر يكونـان فـى الناحيـة نفسها•

ويلاحظ أنه إذا نزعت مجموعة الفوسفات من النيوكليوتيد أطلق على المركب الباقى إسم نيوكليوسيد **nucleoside**٠

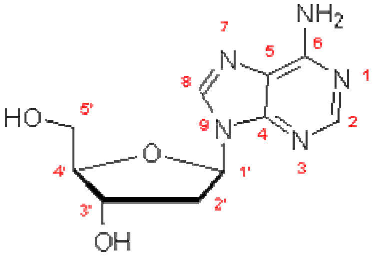
وعلـى ذلـك فالنيوكليوسـيدات المعرفـة (شـكل ١٣) هـي أدينوسـين **adenosine**، جوانوسـين **guanosine**، سـيتيدين **cytidine**، يوريـدين **uridine**، ثايميـدين **thymidine**، ويـضاف المقطـع الأولـي (دي أوكسي) - **Deoxy** للدلالة على الدي أوكسي نيوكليوسيدات **deoxyribonucleosides**٠



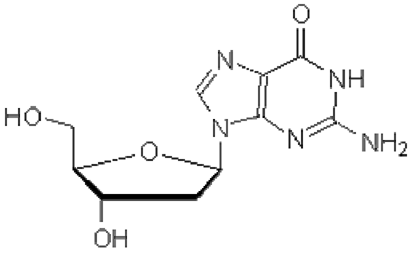
Adenosine



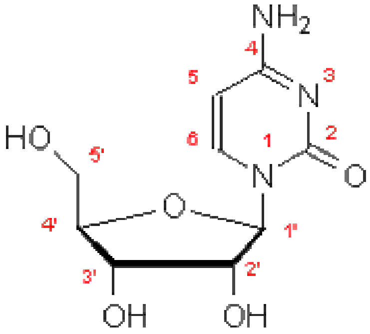
Adenosine



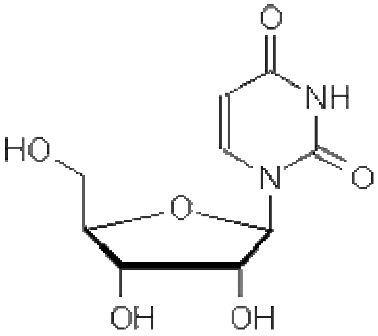
Deoxyadenosine



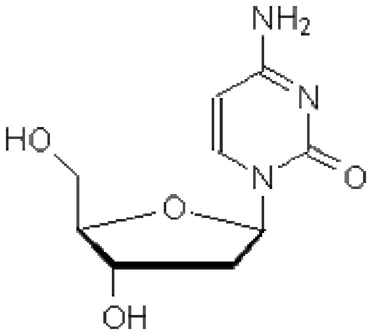
Deoxyguanosine



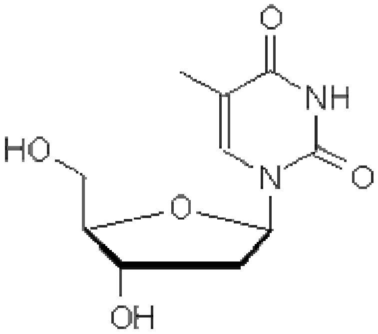
Cytidine



Uridine



Deoxycytidine



Thymidine (Deoxythymidine)

شكل ١٣: أنواع االنيوكليوسيدات المختلفة

ويمكن بإيجاز القول أن تركيب الحامض النووى **DNA** ذو طبيعة تسمح له بحمل المعلومات الوراثية، بالإضافة إلى أن طبيعة هذا التركيب تسمح له أيضاً بمضاعفة نفسه. ويمكن أن ترتبط النيوكليوتيدات **Nucleotides** بروابط تساهمية بأى نظام لتكوين بوليمرات عديدة الوحدات وطويل **Long polymers**. وكما ذكرنا فكل بناء من قوالب الحامض النووى **DNA** عبارة عن نيوكليوتيد **Nucleotide** يتكون من سكر خماسى وهو الديوكسى ريبوز **Deoxyribose** وفوسفات **phosphate** وقاعدة نيتروجينية **Nitrogen base**. والقواعد النيتروجينية تتضمن مجموعتان من

البيـــورين **Purines** وتتـــضمن الأدينيـــــن **Adenine (A)** والجـــوانين **Guanine (G)** أمـا المجموعـة الثانيـة فهـى البيريميـدين **Pyrimidines**٠ وتشتمل علـى الثـايمين **Thymine (T)** والـسيتوسين**(C) Cytosine** ، وترتبط النيوكليوتيدات ببعضها بواسطة روابط تساهمية لتكوين عمود فقرى مـن تعاقـب الـسكر والفوسـفات **Sugar-Phosphate backbone**٠ والنيوكليوتيدات ترتبط ببعضها عن طريق الروابط التساهمية التـى تربط ذرة الكربون الثالثة فى جزئ سكر بالفوسفات المرتبطة بذرة الكربون الخامسة فـى جزئ السكر المجاور له ليكون **3,5 phosphodiester linkage**٠

ولذا فمن الممكن تكوين عديد النيوكليوتيدات بأى طول كان٠ فنحن نعلم أن جزيئات **DNA** داخل الخلايا تتكون من ملايين القواعد فى الطول، وأن النيوكليوتيدات يمكنها أن ترتبط مع بعضها بأى طراز٠ ومهما كان طول هذه السلسلة فلها نهـايتين، النهايـة الخامسة **The 5`end** والتـى لهـا ذرة الكربـون الخامسة والنهاية الثالثة **The 3`end** والتـى لهـا ذرة الكربـون الثالثـة والتـى لا ترتبط بنيوكليوتيد أخر٠ وعندما إهتم هذان العالمان بدراسة الحامض النـووى **DNA** كمـادة وراثيـة فقـد أوضـحا لنـا الكثيـرًا مـن خصائـصه الطبيعيـة والكيميائية، كما أنهما إهتما بتجميع المعلومات المتكاملة عن هذا الحـامض مع بعضها فـى نمـوذج يوضـح كيف يقوم هذا الجزئ بحمل المعلومـات الوراثيـة بالإضـافة إلـى قدرتـه علـى مضاعفة نفسه **self-duplication** بنفس تركيبـه السابق٠

خواص الأحماض النووية Properties of Nucleic Acid

تمتص القواعد النتروجينيـة من نـوع البيـورين والبيريميـدين الموجـودة في الأحماض النووية الأشعة فوق البنفسجية بدرجة كبيرة عند موجة ذات طـول

٢٦٠ نانوميتر٠ وتستخدم هذه الخاصية لتقدير هذه القواعد النتروجينية كمياً من خلال تقدير نيوكليتيداتها وأيضاً الأحماض النووية الداخلة فى تركيبها٠ وعلى كل حال، فإن للحمض النووي **DNA** معامل إمتصاص نوعي عند طول الموجة ٢٦٠ نانومتير لكنه يقل بمقدار حوالي ٣٥ – ٤٠ % عن معامل الإمتصاص النوعي المتوقع من حاصل جمع الإمتصاص لكل قاعدة (على حدة) من القواعد الداخلة بتركيب الحمض النووي **DNA**٠ وهذه النظرية تسمى بنظرية التأثير الهيبوكرومي **Hypochromic Influence Theory**٠ وهنا الإنخفاض في درجة الإمتصاص النوعي للاشعة فوق البنفسجية بالنسبة للقواعد الآزوتية المتحدة بجزيئات الحمض النووي **DNA** عن نظيرتها الحرة يرجع ذلك لتكون روابط هيدروجينية بين القواعد النتروجينية المتراكبة الواحدة فوق الأخرى في كل من السلسلتين الحلزونيتين للحمض النووي **DNA**٠ وهذه الخاصية مفيدة في تقدير درجة الحلزنة **Helicity** الحمض النووي **DNA**٠

وعند تسخين الحمض النووي **DNA** المبلمر بدرجة كبيرة لكن ببطئ فإن السلسلتين حلزونيتي الشكل به تبتعدان عن بعضهما وتسمى عملية الإبتعاد هذه بعملية إنفصال أو تشتيت السلسلتين **Melting**٠ وهذا التحول من الشكل الحلزوني ذو السلسلتين الى أي شكل عشوائي يحدث من خلال رفع درجة الحرارة ونتيجة لهذا التحول تزداد درجة الإمتصاص النوعي٠ وتسمى درجة الحرارة التي يحدث عندها الزيادة المفاجئة في الإمتصاص للأشعة فوق البنفسجية بدرجة حرارة الإنفصال أو الإنصهار (**Melting temperature** **Tm**) للحمض النووي٠ ولكل نوع من أنواع الحمض النووي **DNA** درجة **Tm** خاصة به٠ أما عند إعادة تبريد المحلول ببطئ فإنه يحدث إعادة لتكوين

الشكل الحلزوني ذو السلستين مع امكانية حدوث تبادل بين السلاسل وتسمى هذه العملية بالإلتحام **Annealing**٠

خصائص الحامض النووى **DNA Characteristics**

تم التعرف على معلومات هامة عن تركيب الحامض النووى **DNA** عن طريق حيود أشعة أكس **X-ray diffraction** أى إنحراف أشعة أكس إنحرافًا ضئيلاً عند مرورها بحواف الحامض النووى كما ذكر العالم روزالين فرانكلين **Rosalin Franklin**٠ فحيود أشعة أكس هى بمثابة طريقة فعالة لتقدير المسافات بين الذرات الموجودة فى جزيئات متراصة بانتظام (تركيب متعاقب من البلورات)٠ ولأشعة أكس طول موجة صغير جدا لدرجة أنها تتبعثر بواسطة الإلكترونات المغلفة للذرة فى الجزئ٠ والذرات التى لها سحابة إلكترونية كثيفة مثل الفوسفور **Phosphorus** والأوكسجين **Oxygen** تسبب إنحراف الإلكترونات بقوة أكبر مقارنة بالذرات ذات العدد الذرى الأقل٠

من المعروف أنه عند تعريض التركيب البلورى للحمض النووى لأى تركيب لأشعة أكس المكثفة يحدث أن يسبب الترتيب المنتظم للذرات فى البلورة إلى حيود أشعة أكس أو إلتوائها فى إتجاهات معينة٠ ونظام حيود أشعة أكس هذا يمكن رؤيته فى فيلم ضوئى (فيلم تصوير) كنقاط معتمة٠ وعن طريق التحليل الرياضي **Mathematical analysis** لترتيب النقاط المعتمة والمسافة بينهما يمكن أن يستخدم لتقدير المسافة بين الذرات وإتجاه هذه الذرات داخل الجزئ بدقة كاملة٠

وعندما سعى العالمان واطسن وكريك لحل مشكلة تركيب الحامض النووى **DNA** كان فرانكلين قد صور بالفعل عن طريق أشعة أكس **X-ray**

فيلمـاً لنمـوذج الحـامض النـووى DNA والـصورة أظهـرت بوضـوح أن الحامض النووى DNA عبارة عن تركيب حلزونـى الشكل، وأن هنـاك ثلاثـة أنواع هامـة من النمـاذج المنتظمـة والمتعاقبـة فـى الجزئ والتـى لهـا أبعـاد ٣٤ نـانومتر، ٢ نـانومتر٠ ومـن هـذا النمـوذج توصـل فـرانكلين إلـى أن القواعـد النيوكيلوتيدية Nucleotide bases (والتى هى عبارة عن جزيئات مسطحة) هى عبارة عن رفوف متراصة فوق بعض مثل درجات السلم المتراصـة فوق بعضها٠ وبإستخدام هذه المعلومـة بدأ العالمـان واطسن وكريك بوضـع عدة نماذج لمكونات الحامض النووى DNA مع محاولة توفيقهم مـع بعض ليتفقوا مـع البيانـات المـأخوذة مـن تجـارب العـالم فـرانكلين٠ وبعد عـدة تجـارب قامـا العالمان بوضع نموذج للحامض النووى DNA يتكون من سلسلتين مـن عديد النيوكليوتيـد two nucleotide chains ملتفين حـول بعضهما فـى صـورة حلزون مـزدوج٠ ونجد أيضاً أن السكر والفوسفات المكونين للعمـود الفقرى للسلـسلتين يكونـوا الجـدار الخـارجى للحلـزون، أمـا القواعـد المتـصلة بكلتـا السلسلتين فتوجد فى الوسط٠

الروابط الهيدروجينيـة المتكونـة فـى الخيط المزدوج للحـامض النـووى DNA فى عام ١٩٥٠ قام العالم إدون تشارجاف ومساعدوه بجامعة كولومبيا بدراسة نسب القواعد النتروجينية فى الحامض النووى DNA بالنسبة لبعضها الـبعض ووجـدوا أنــه بعـض النظـر عـن مـصدر الحـامض النـووى DNA (أى نـوع الخليـة التـى أخذ منهـا أو نـوع الكـائن الحـى المـأخوذ منـه) وجد أن نسبة الأدينين (A) إلـى الثـايمين (T) وأيضاً نسبة الجوانين (G) إلـى الستيوزين (C) جميعها لا تبتعد عن الواحد الصحيح كما وجد أيضاً أن نـسبة البيورين إلى البيريميدين أيضاً تساوى الواحد الصحيح٠ أو بمعنـى أخر وجد أن الأدينين A يـساوى الثـايمين T وأن الـستيوزين C يـساوى الجـوانين G أى

(**G=C**) و (**A=T**) رصدت الدراسات التى أجريت على حيود أشعة أكس **X-ray diffraction** أن للحلزون المزدوج إتساع منتظم ودقيق وإستدل علي ذلك من حيود مقداره أثنين نانومتر وهذه النتيجة تتفق مع النتائج السابقة التى تفيد أن قواعد البيريميدين وهما السيتوسين (**C**) والثايمين (**T**) تحتوى فقط على حلقة واحدة من الذرات وهما أصغر من قواعد البيورين وهما الجوانين(**G**) والأدينين (**A**) واللذان يحتويان على حلقتين فى تركيبهما٠ ولذا فالدراسات التى أجراها واطسن وكريك على نماذج الحامض النووى **DNA** أكدت أنه عند نقط إتصال خيطى الجزئ ترتبط قاعدة من البيورين مع قاعدة من البيريميدين فيكون إتساع الحلزون عند هذه النقطة يساوى أثنين نانومتر٠ أما لو إتحدت قاعدتين من البيورين (كل واحدة منها إتساعها ١٢ نانومتر) فسوف تكون نقط الإتصال بإتساع أوسع من إثنين نانومتر، أما لو إتحدت قاعدتين من البيريميدين فسوف يكون إتساعها أقل من إثنين نانومتر٠ وبالتالى فلابد أن يكون هناك إرتباط ما بين قاعدة من البيورين مع قاعدة من البيريميدين٠ ثم أثبتت الدراسات بعد ذلك أن الأدينين (**A**) يرتبط بالثايمين(**T**) وأن السيتوسين (**C**) يرتبط بالجوانين (**G**) والسبب فى أن الثايمين (**T**) يرتبط فقط بالأدينين (**A**) هو أنهم يرتبطوا ببعض بزوج من الروابط الهيدروجينية **two hydrogen bonds** أما السيتوسين (**C**) والذى لا يرتبط إلا بالجوانين (**G**) فهما يرتبطان ببعض بعدد ثلاث روابط هيدروجينية٠ وبالتالى فكل أدينين (**A**) فى أحد خيطى السلسلة لابد أن يقابل ثايمين (**T**) فى الخيط المقابل وأيضاً كل سيتوزين (**C**) فى أحد خيطى السلسلة لابد أن يقابله جوانين (**G**) فى الخيط المقابل٠ ولذلك فتعاقب القواعد فى السلسلتين تكون متممة **Complementary** لبعضهما٠ وبديهي أيضاً أنها لا يمكن أن تكون متطابقة مع بعضها٠ أو بمعنى آخر أننا لو نتتبع

تتابع القواعد فى أحد السلسلتين فيمكننا معرفة ماهية القواعد فى السلسلة الأخرى ومثالا لذلك فلو كان ترتيب القواعد فى أحد الخيطين هو:

3_____AGTCACTG_____5

فيكون ترتيب القواعد فى الخيط المقابل هو

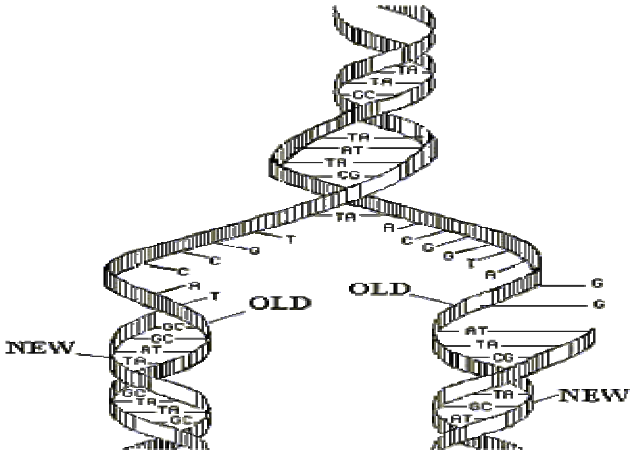
5_____TCAGTGAC_____3

ونموذج الحلزون المزدوج للحامض النووى **DNA** يؤكد الإعتقاد السائد بأن تعاقب القواعد فى الحمض النووى **DNA** يمكن أن يسمح بتخزين المعلومات الوراثية٠ وحيث أن جزئ **DNA** داخل الخلية يمكن أن يتكون من الملايين من القواعد فى الطول، لذا فهو يسمح بتخزين كمية كبيرة جدا من المعلومات الوراثية٠

تضاعف أو تناسخ (تكرار) المادة الوراثية DNA Replication

تشتمل آلية تضاعف جزئ حمض **DNA** على فك إرتباط شريطي عديد النيوكليوتيدات المكونين للجزئ بعضهما عن بعض وذلك بفك الروابط الهيدروجينية الضعيفة النى تربط بينهما٠ ويتبع هذا تراص نيوكليوتيدات جديده أمام كل شريط، وإرتباط بعضها ببعض بمساعدة إنزيم البلمرة **DNA polymerase**، وبذلك يتم تخليق شريطين جديدين من عديد النيوكليوتيدات٠ وبمعنى آخر فإن كل شريط قديم يعمل كقالب يتكون وفقاً له شريط جديد، وبذلك فإن كل جزئ من حمض **DNA** يكون قد تضاعف الي جزيئين٠ ومن المهم أن نذكر أن تتابع القواعد النيتروجينية في الشريط القديم هو الذي يحدد تتابعها على الشريط الجديد، ومن هنا جاء القول بأن الشريط القديم يعمل كقالب للشريط الجديد، فإذا كانت القاعدة النيتروجينية على الشريط القديم (**A**) مثلا، جاءت أمامها القاعدة (**T**)على الشريط الجديد، والعكس بالعكس، كذلك إذا كانت

القاعدة (**G**) على الشريط القديم، جاءت أمامها القاعدة (**C**) على الشريط الجديد، والعكس صحيح (شكل ١٤)٠



شكل ١٤: عملية تضاعف وتناسخ شريط DNA

آلية تضاعف المادة الوراثية Mechanism of DNA Replication

ويوصف تضاعف جزئ حمض **DNA** بأنه "شبه محافظ" **semiconservative**، ذلك أن كل جزئ ناتج عن التضاعف يكون محتفظا بأحد شريطي الجزئ الأصلي، بينهما يكون الشريط الآخر لهذا الجزئ الناتج مستحدث التكوين٠ ويتحكم الحامض النووي في العمليات البيولوجية فى أى كائن حى وذلك لأنه يعتبر المركز الوحيد للمعلومات الوراثية **Genetic Information** التى تنتقل بطريقة دقيقة من الآباء إلى النسل الناتج ويتم تضاعف الحامض النووى **DNA** بثلاثة طرق هى : -

١-الطريقة شبه المحافظة **Semiconservative of DNA Replication**

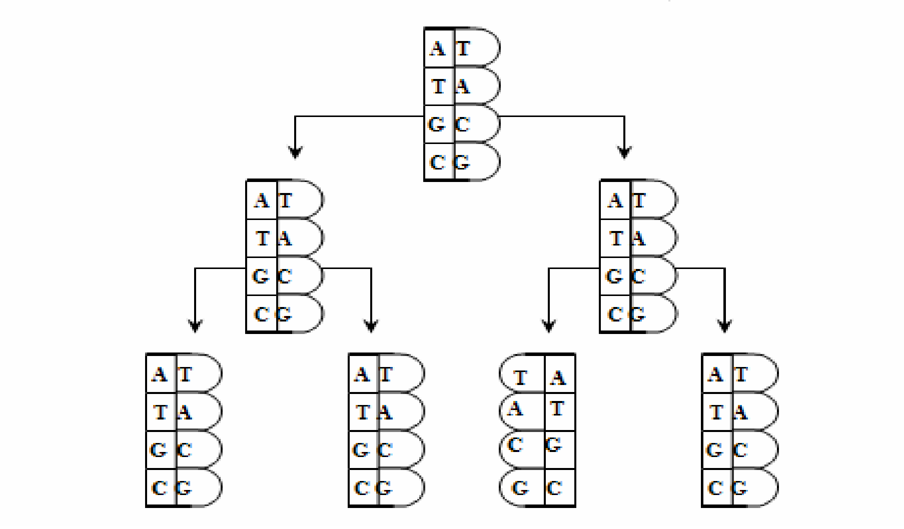
٢- الطريقة المحافظة **Conservative of DNA Replication**

٣- الطريقة التشتتية **Dispersive Replication mechanism**

١ - الطريقة شبة المحافظة لتكرار المادة الوراثية

Semiconservative of DNA Replication

أصبح من الواضح الآن أن الحامض النووى **DNA** يتكون من حلزون مزدوج تتزاوج فيه القواعد النتروجينية بنظام محدد ومعين كما سبق الإشارة سلفاً وبالتالى فتزاوج القواعد هذا يمدنا بالآلية البسيطة لتكرار الحامض النووى **DNA** (شكل ١٥)٠ فلو تكسرت الروابط الهيدروجينية بين الخيطين وإنفصلت السلسلتين عن بعضهما٠ فكل نصف حلزون فى هذه الحالة يمكن أن يتكامل مع نيوكليوتيدات جديدة لتحل محل النيوكليوتيدات التى كانت متزاوجة معه فى الخيط القديم٠ وبعبارة أخرى أنه يمكن لكل خيط أبوى فى هذه الحالة أن يدير



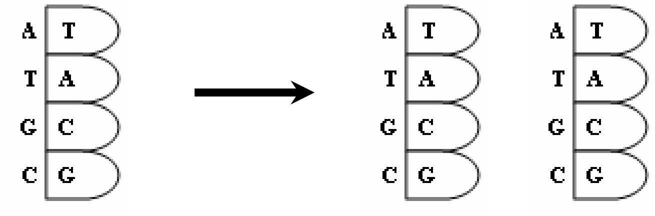
شكل ١٥: الطريقة شبه المحافظة لتكرار المادة الوراثية DNA

عملية تكوين خليط مكمل جديد على أساس شروط نظام تزاوج القواعد النتروجينية السابق ذكره، وبالتالى فكل خيط أبوى يعمل كقالب لخيط جديد٠ فمثلا الجوانين (G) فى الخيط الأبوى يعمل كقالب لوضع السيتوسين (C) وأيضاً الثايمين (T) فى الخيط الأبوى يعمل كقالب لوضع الأدينين (A)٠ وسميت هذه الطريقة فى تكرار **DNA** بالطريقة شبه المحافظة للتكرار نظراً لأن الحلزون الأبوى المزدوج يحافظ عليه جزئيا أثناء تكرار الحامض النووى **DNA** وآلية التكرار شبه المحافظة **Semiconservative Replication Mechanism** هذه قد تم إقتراحها بواسطة العالمان واطسن وكريك، وهى طريقة بسيطة وتوضح كيفية مضاعفة الحامض النووى **DNA**٠

٢- الطريقة المحافظة لتكرار المادة الوراثية

Replication of DNA Conservative

إن آلية هذة الطريقة المحافظة هنا تعنى بقاء الحلزونات الأبوية المزدوجة كما هى بدون أن تنفصل أى بدون تكسر الروابط الهيدروجينية الموجودة بين القواعد النتروجينية ومن هنا جاءت التسمية أنها محافظ عليها تماما٠ وفى هذه الطريقة فإن الحلزون المزدوج يقوم بتكوين حلزون مزدوج جديد مكون من خيطين مخلقين (شكل ١٦)



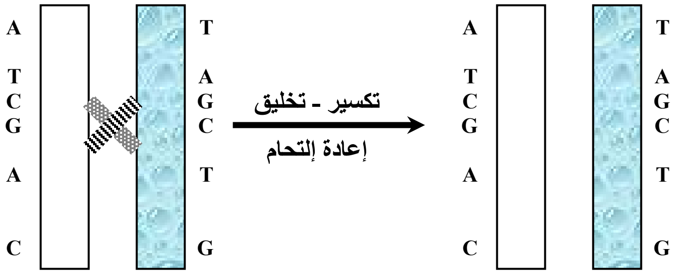
شكل ١٦: الطريقة المحافظة لتكرار المادة الوراثية DNA

يوضح الشكل الآلية المحافظة لتكرار (مضاعفة) **DNA** ويتضح فى الشكل أن الحلزون الأبوى يبقى كما هو دون أن تنفصل السلسلتين ويستخدم كقالب وتطبع عليه القواعد المقابلة للقواعد النيتروجينية الموجودة فى القالب الأبوى٠ وبالتالى ينتج قالب جديد من **DNA** (وهو المرسوم بالنقط وليس بخطوط متصلة)٠

٣- الطريقة التشتتية لتكرار المادة الوراثية

Dispersive Replication of DNA

يتم فيها تداخل أجزاء من الخيوط الأبوية والخيوط الجديدة من خلال عمليات تكسير وتخليق وإلتحام لهذه الأجزاء وتجدر الإشارة أن هذا التداخل بين أجزاء الخيوط يتم بطريقة عشوائية٠ والشكل (١٧) يوضح هذا التداخل العشوائى (تكسير - تخليق - إعادة إلتحام) أثناء الطريقة التشتتية لتكرار الحامض النووى **DNA**٠



شكل ١٧ : الطريقة التشتتية لتكرار المادة الوراثية DNA

بالرغم من بساطة آلية تكرار الحامض النووى إلا أن عملية التكرار هذه تحتاج إلى تركيب متخصص يحتوى على عدد كبير من البروتينات والإنزيمات، والتى تعمل مع بعضها البعض بنظام متكامل٠ ولذا يطلق

عليها العلماء Replication machine٠ ويجب ملاحظة أن هناك بعض الفروق التى توجد بين خلايا النباتات الراقية مميزة النواة eukaryotic cells وخلايا النباتات الدنيئة غير مميزة النواة prokaryotic cells٠ ففى الخلايا غير مميزة النواة يوجد الحمض النووى DNA على شكل خيط دائرى مفرد وغير مغلف بغشاء نووى٠ أما فى الخلايا مميزة النواة فيوجد بداخل نواتها الكروموسومات وكل كروموسوم مفرد يحتوى على جزئ من حلزون مزدوج مكون من خيطين ملتفين حول بعضهما ومعهم كمية كبيرة من البروتين والحامض النووى RNA٠

وتجدر بالإشارة إلى أن الخيطين المكونين لجزئ DNA والملتفين حول بعضهما على شكل حلزون يجب أن يعودا عن هذا الإلتفاف ليبتعد الخيطين المكونين للحلزون عن بعضهما أثناء عملية تكرار DNA٠ فكما ذكرنا سلفاً عن نموذج واطسن وكريك للحلزون المزدوج المتكون من التفاف خطين DNA حول بعضهما مثل الحبل المجدول٠ ولو أردنا نزع (إبعاد) هذين الخيطين عن بعضهما فلابد أن يلف أحدهما عكسيا حول الخيط الآخر٠ ويحفز عملية فصل خيطى DNA (المكملين لبعضها) إنزيمات تسمى DNA helicase enzymes والتى تنتقل على طول الحلزون وكلما إنتقلت لمكان على الحلزون تقوم بفك الخيطين عن بعضهما، وفى نفس اللحظة التى ينفصل فيها الخيطان عن بعضهما تقوم بروتينات يطلق عليها إسم helix-destabilzing proteins بالإرتباط على خيط DNA المفرد وذلك لتجنب إرتباطه مره أخرى بالخيط المكمل حتى تتم عملية أخذ نسخة (Copy) من كلا الخيطين٠ وحيث أن جزئيات DNA طويلة جداً ورفيعة لذا فيجب أن تتم هذه العملية بحيث تبقى الصفات المحمولة على جزئ DNA دون تغير٠ ولذلك فهناك إنزيمات متخصصة يطلق عليها Topoisomerases وهذه

المجموعة من الإنزيمات تقوم بقطع الجزء من **DNA** ثم إعادة وصله (لحامه) مرة أخرى بعد إجراء عملية التكرار ٠ وجديراً بالذكر أن عملية تخليق **DNA** دائما تتم فى إتجاه **5/** ________ **3/**، حيث إن الإنزيمات التى تحفز عملية ربط النيوكليوتيدات ببعضها يطلق عليها **DNA Polymerases** وهى إنزيمات لها عدة خصائص تجعلها موائمة ومتخصصة لعملية التكرار بمواصفات وحدود معينة، فهى قادرة على إضافة نيوكليوتيد **Nucleotide** فقط إلى النهاية (**3\ end**) من الخيط عديد النيوكليوتيد **Ploynucleotide strand** والذى يتم تخليقه كنسخة من الخيط الأصلى (لاحظ أن النسخة التى يتم تخليقها تكون بها القواعد المكتملة للقواعد الموجودة بالخيط الأصلى)٠ وكم ذكرنا من قبل أن هناك نيوكليوتيدات **Nucleotides** تعرف بإسم **Nucleoside Triphosphates** وهذه تستخدم كمادة لازمة لتفاعلات البلمرة **Ploymerization Reactions**، وهذه الجزئيات مشابهة لحامل الطاقة **ATP** من ناحية أن كلا الجزيئين يحتوى على ثلاث مجموعات فوسفات مرتبطة بذرة الكربون الخامسة بمجموعة السكر والقاعدة٠ ومع كل إرتباط عدد إثنين النيوكليوتيدات مع بعضهما ويتم نزع مجموعتين فوسفات من جزئ النيوكليوسيدات ثلاثية الفوسفات **Nucleoside Triphosphates**٠ ويجدر الإشارة أنه لأن سلسلة عديد النيوكليوتيد **Ploynucleotide Chain** المخلقة تمتد لتطول بواسطة ربط **Phosphate group** **5** للنيوكليوتيد القادم بالـ **3`Hydroxyl Group of the Sugar** عند نهاية الخيط٠ لذا فالخيط الجديد المخلق من **DNA** عادة ما ينمو فى إتجاه **5/** ________ **3/** ٠

إستخلاص وعزل المادة الوراثية فى النبات

Extraction and Isolation of Plant DNA

يمكن القول أن طريقة عزل المادة الوراثية من أى كائن حى واحدة، وإنما الإختلاف فقط فى طريقة الإستخلاص سواء من النبات، أو الحيوان أو الكائنات الأخرى٠ ويمكن الإشارة إلى إستخلاص وعزل المادة الوراثية فى النبات فى كما يلى (شكل ١٨):

١- يتم جمع أى جزء من نبات سليم وقوى من النبات المراد إستخلاص المادة الوراثية له ويفضل أن تكون تلك الأجزاء الطازجة٠

٢- يطحن أجزاء النبات فى هون بإستخدام يد هون جيداً ثم يضاف محلول الإستخلاص المنظم٠

٣- يعرض المستخلص الناتج لعملية الطرد المركزى لفصل الجزء الرائق العلوى من محلول الإستخلاص المنظم عن بقية حطام الأجزاء النباتية الأخرى٠

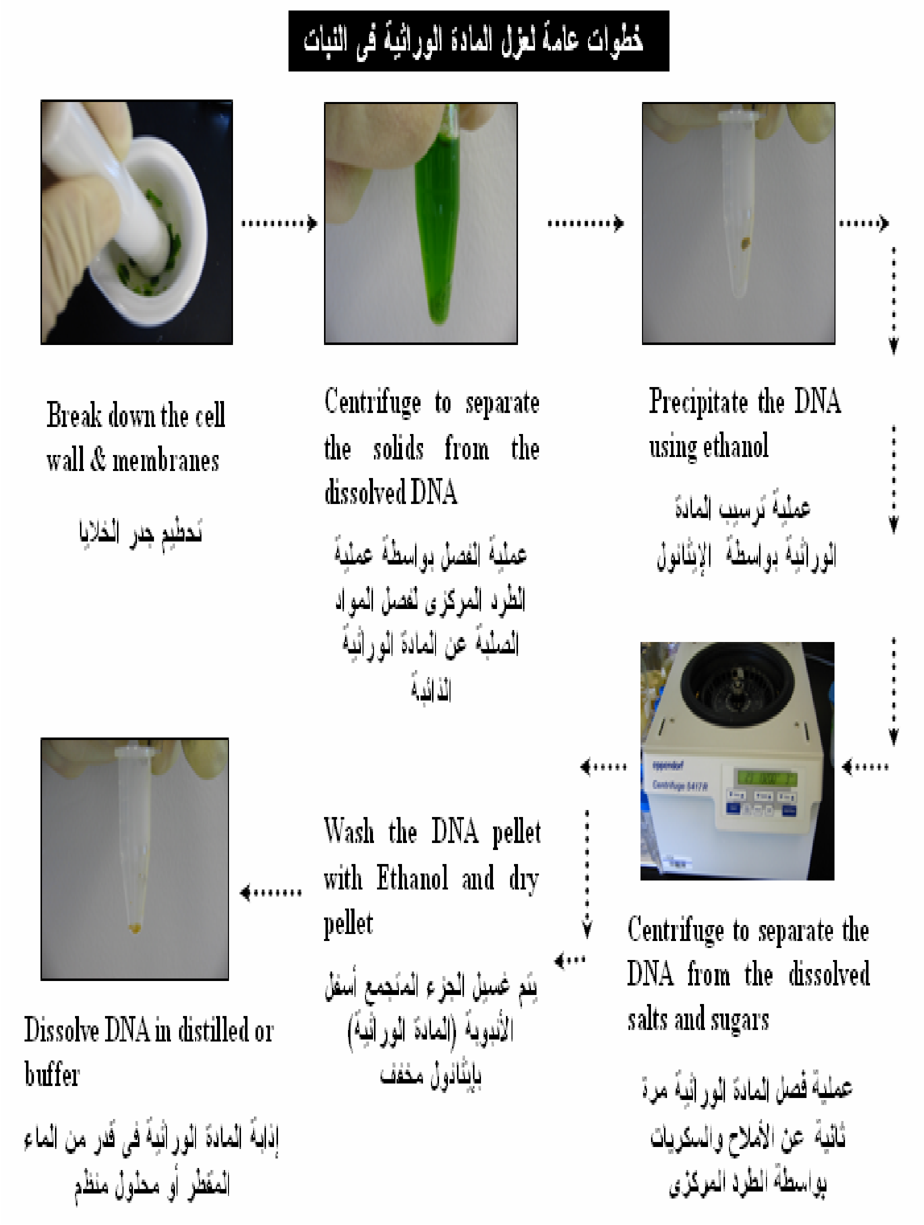
٤- يخلط الجزء الرائق العلوى بعد فصله فى أنبوبة نظيفة مع الإيثانول لترسيب المادة الوراثية والتى ستكون على هيئة صورة تجمع فى قاع الأنبوبة٠

٥- يتم التخلص من الجزء العلوى (السائل الموجود أعلى الأنبوبة)٠

٦- يتم غسيل الجزء المتجمع فى قاع الأنبوبة بإيثانول مخفف٠

٧- يتم تجفيف المادة الوراثية ثم تذاب فى قدر من الماء المقطر أو محلول منظم٠

والمخطط الآتى يلخص عملية الإستخلاص والعزل كالآتى:



شكل ١٨: خطوات إستخلاص وعزل المادة الوراثية فى النبات

تقنية التفاعل البنائى التتابعى

Polymerase Chain Reaction (PCR)

تحفظ المعلومات الوراثية وغيرها داخل الحمض النووي (**DNA**)٠ وتقوم الخلية بمضاعفة كمية الحمض النووي وقت إنقسام الخلية بشكل تلقائي وبشكل سريع مع وجود نظام تصحيح للأخطاء خلال النسخ٠ وتبلغ سرعة النسخ والمضاعفة إلى ١٠٠٠قاعدة نيتروجينية بالثانية(داخل النظام الحيوي)٠ ومع التطور في مجال التكنولوجيا الحيوية والذي يقوم على التعامل مع الحمض النووي (**DNA**) بشكل أساسي، إستدعى ذلك العلماء إلى أن يبحثوا عن طريقة أو تقنية تقوم على مضاعفة كمية الحمض النووي (**DNA**) بشكل كبير، فكان هناك عدة محاولات لتحفيز الخلية على الإنقسام المستمر بإضافة عوامل النمو **Growth Factors**، ولكن لم تكن هذه الطريقة ذات جدوى لدى العلماء لأسباب كثيرة، إلى أن قام العالم **Dr Kerry Mullis** في عام ١٩٨٥ والحاصل على جائزة نوبل في الكيمياء عام ١٩٩٣ بنشر إختراعه لتقنية **PCR** فكانت هذه التقنية البوابة لكثير من التطورات المتسارعة في مجال التكنولوجيا الحيوية، من أهم الأسباب التي ساعدت هذه التقنية على الإنتشار هوعدم إعتمادها على النظام الحيوي (أي الخلية) والتحكم بكمية الحمض النووي (**DNA**) والسرعة في الإنتاج، ولكن كان من عيوب هذه التقنية عدم وجود نظام إصلاح عند حدوث أى إرتباط خاطئ **Miss match**٠

تعريف تقنية التفاعل البنائى التتابعى؟

هى تقنية عملية تقوم على إكثار نسخ الحمض النووي (**DNA**) خارج النظام الحيوي٠ أي أنها طريقة لنسخ الحمض النووي معملياً ولذلك فهي تقنية

حيوية لإستنساخ قطعة من محددة من الحمض النووي ومضاعفة إنتاجها لكي يتسنى إجراء إختبارات وفحوصات إضافية٠

متطلبات تقنية التفاعل البنائى التتابعى

Requirements of PCR Technology

يتطلب أمر إنتاج الحمض النووي (**DNA**) بواسطة **PCR** توفيرالإحتياجات الآتية:

١. جهاز للتحكم فى درجات حرارة التفاعل بشكل دقيق ومتتالي (الدورة الحرارية **Thermocycle**) حيث يقوم هذا الجهاز بتغيير درجة الحرارة بشكل سريع، لأن تغيير درجة الحرارة هو الأساس الذي تقوم عليه فكرة هذه التقنية٠

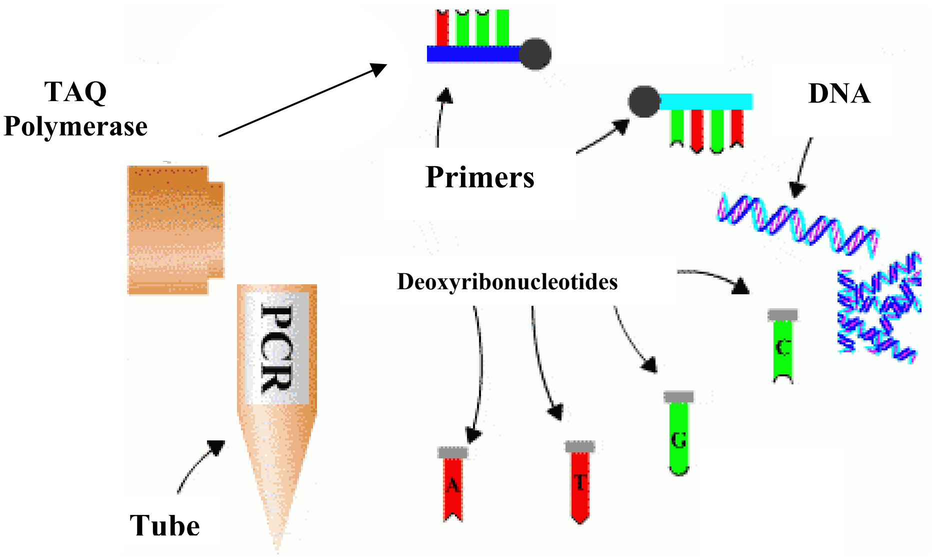
٢. إنزيم **DNA polymerase** لبناء وترتيب القواعد النيتروجينية (وحدات الحمض النووي **DNA**)، ويجب أن يكون هذا الإنزيم مقاوم للحرارة العالية ليتمكن من العمل، على أيه حال، يعد **Tag Polymerase** من الإنزيمات المقاوم للحرارة العالية٠

٣. وجود مجموعة متفرقة من القواعد النيتروجينية: (**T – C – G - A**) ليتمكن الإنزيم من ترتيبها في مواقعها أثناء عملية نسخ الحمض النووي (**DNA**)٠

٤. وجود بادئ **Primer** وهو عبارة عن قطعة صغيرة من الحمض النووي (**DNA**) ليتمكن الإنزيم من بدء البناء والنسخ عليها٠

٥. وجود نسخة من الحمض النووي (**DNA**) المراد نسخه٠

٦. وجود محلول أو وسط ليتم به التفاعل وهذا المحلول يختلف من تفاعل وآخر٠ ويوضح شكل (١٩) متطلبات تقنية التفاعل البنائى التتابعى٠



شكل١٩: متطلبات تقنية التفاعل البنائى التتابعى (PCR)

عملية النسخ Replication Technique

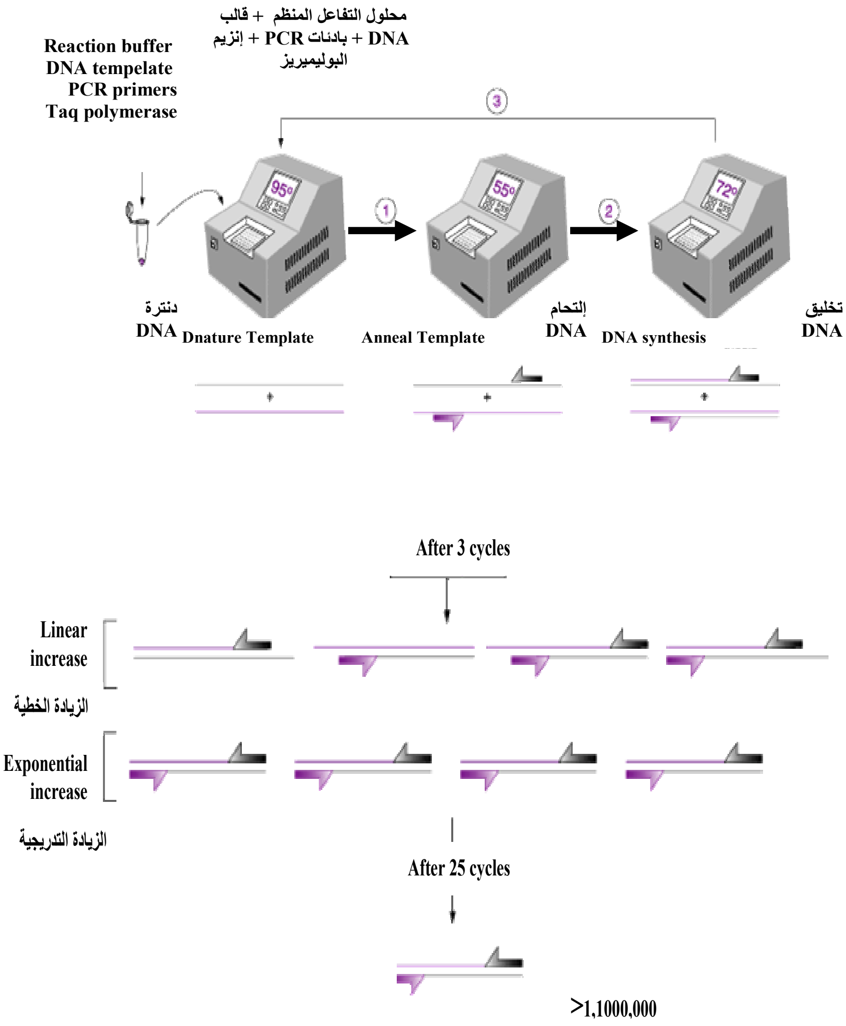
بعد وضع الحمض النووي المراد نسخة مع البادئ وإنزيم البوليمريز ومجموعة من الأحماض النووية في أنبوب داخل جهاز التحكم الحراري فإن عملية النسخ تمر بثلاث مراحل منفصلة (أشكال ٢٠ – ٢١- ٢٢):

١. مرحلة التفكيك أو الدنترة **Denature**: وتتم برفع درجة الحرارة إلى ٩٥ ْم وذلك لفك الحمض النووي (**DNA**) الأصلى٠

٢. مرحلة الالتصاق أو الإلتحام **anneal**: وتتم بخفض درجة الحرارة إلى ما بين ٥٥-٦٠ ْم ليقوم البادئ بالألتصاق فيزيائياً بواسطة الروابط الهيدروجينية مع الحمض النووي (**DNA**) الأصلى٠

٣. مرحلة التمدد **extend**: وتتم برفع درجة الحرارة إلى ٧٥ْم ليقوم أنزيم البلمريز بعمله في بناء الحمض النووي (**DNA**) الجديد.

وهذه المراحل الثلاث تعتبر دورة كاملة وفيها يصبح الحمض النووي



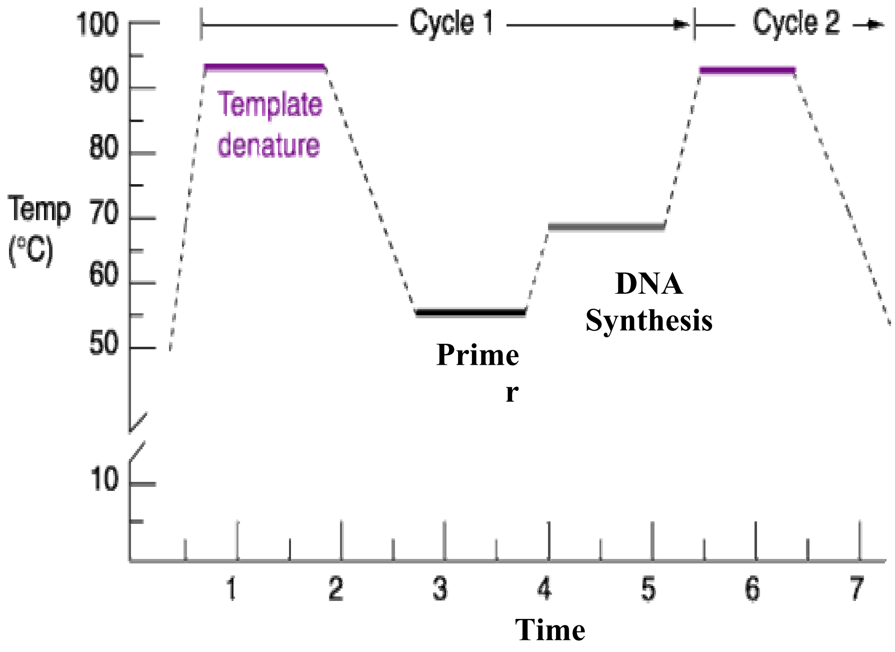
أشكال ٢٠-٢١: الدورات الحرارية ومراحل التفاعل التسلسلى فى تقنية PCR

(**DNA**) الأصلى قد تضاعف، وتعتمد كمية ناتج الحمض النووي على عدد الدورات التى يتم إنجازها.

وإذا أخذنا فى الإعتبار عدد دورات **PCR** وعدد النسخ الناشئة، يمكن إيجازها فى الجدول الآتى:

عدد الدورات	١	٢	٤	١٠	١٥	٢٠
عدد النسخ	٢	٤	١٦	١,٠٢٤	٣٢,٧٦٨	١,٠٤٨,٥٧٦

وإذا أخذنا فى الإعتبار درجات الحرارة والمراحل الحرارية المختلفة لهذة التقنية يمكن الوصول إلى شكل (٢٢) الاتى:



شكل ٢٢: الدورات الحرارية ومراحل التفاعل التسلسلى فى تقنية PCR

أستخدامات تقنية التفاعل البنائى التتابعى Applications of PCR

لتقنيـة **PCR** إسـتخدامات عديـدة فـي مجـال أبحـاث الحمـض النـووي والوراثة ومنها:

- الكشف عن الطفرات الوراثيـة: وذلـك عن طريـق وضـع بـادئ (بريمـر) خـاص للطفـرة لإكثـار الجين الخـاص بهـا، ومنـه نقوم بمعرفـة المـرض إذا كان على زوجى الكروموسومات أو على إحداهما (أليل **allele**)٠
- تحديد البصمة الوراثية٠
- الكـشف عـن الفيروسـات وهـي الوسـيلة الأدق فـي تحديـد نـوع وجـنس الفيروس وكميته٠
- إكثـار الجين المراد إدخالـه علـى البلازميد أو الحمض النووي (**DNA**) المضيف وهو العنصر الأهم في عمليـة التجميع الجينـي **Recombinant DNA**٠
- تغيير نهايـات الجين لتـصبح متوافقـة مـع إنزيمـات القطـع **Restriction enzymes**
- تحديـد تتـابع القواعـد النيتروجينيـة فـي الحمـض النـووي (**DNA**) **DNA Sequencer**٠
- معرفة طول الحمض النووي **DNA**٠
- تحديد الجين المطلوب من خليط من الجينات٠
- يستخدم في تقنية **Microarrays**٠
- في مشروع الخريطة الجينية **Genome map**٠
- الساوثرن بلوت **Southern plot** أو تهجين الأحماض النووية٠
- تقنيـة إرتبـاط الحمـض النـووي (**DNA**) بـالبروتين **DNA-Protein Interaction**

- فـي مجـال الطـب الـشرعي (إختبـار الأبـوة، حـالات الاغـتـصاب، تحديـد الهوية ٠٠إلخ) وغيرها من الإستخدامات المعملية والبحثية٠

أنواع تقنية التفاعل البنائى التتابعى **Types of PCR**

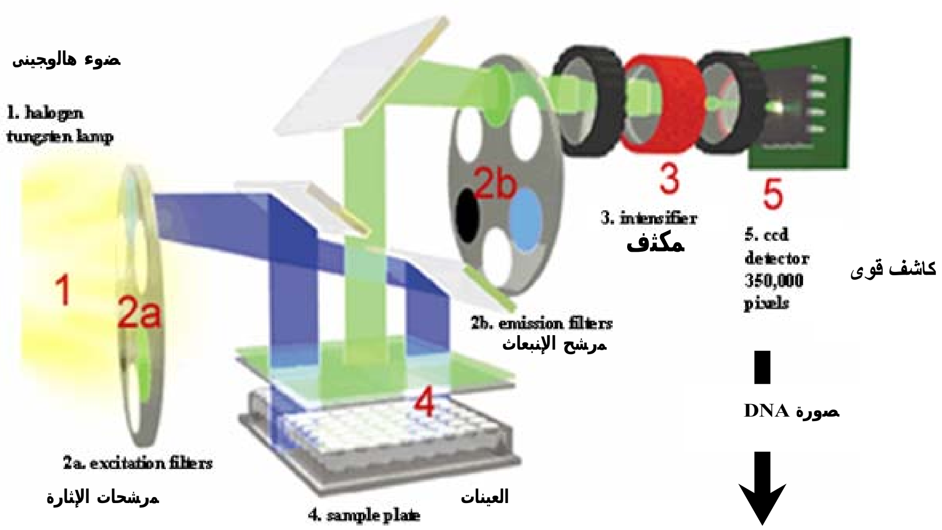
هناك نوعان من التفاعل البنائى التتابعى يمكن إيجازها فى الآتى:

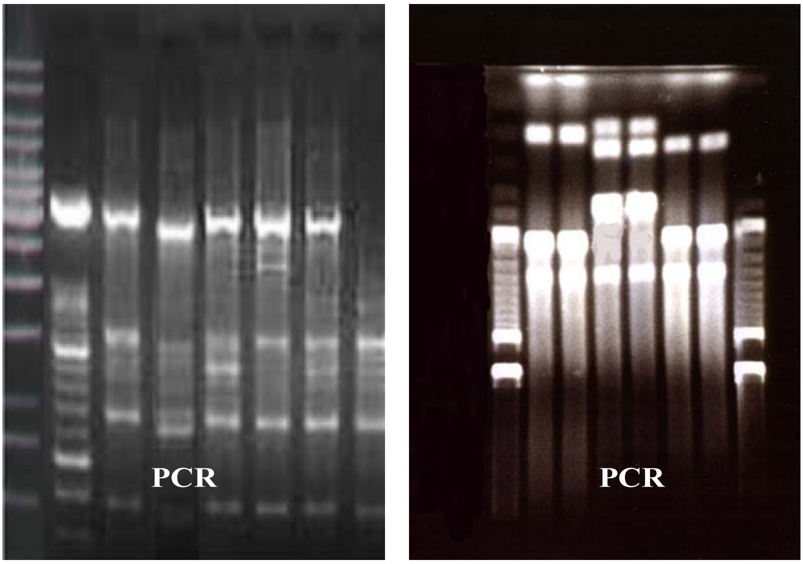
- التفاعل البنائى التتابعى العادي وهو ما تم سرده والتطرق اليه في الخطوات السابقة **Normal PCR**
- التفاعل البنائى التتابعى بإستخدام الكمبيوتر **Computerized Real Time PCR**

وهـذا النـوع يقـوم علـى نفـس المبـدأ ولكـن الخـلاف الوحيـد هـو ربـط جهـاز **PCR** بكمبيـوتر لتحديـد الوقـت الحقيقـي لبـدأ التفاعـل ومـن ثـم الكميـة الحقيقية لعدد نسخ الحمض النووي (**DNA**)٠ ويعتمد ذلك على وجود قواعد نيتروجينية حرة مشعة لتحديد ذلك، مما يسهل على الباحثين تقدير الوقت لتحديد مدى وجود الجين المطلوب من عدمه، وكميـة الجين بـدون الوصـول إلـى نـهايـة

شكل ٢٣ : جهاز Real Time PCR المستخدم فى تفاعل PCR

الدورات الحرارية المحددة (شكل ٢٣- ٢٤)٠





شكل ٢٤ : نواتج التفاعل البنائى المتسلسل

الباب الثالث

الإستنساخ الوراثى والإتجاهات الحديثة فى التكنولوجيا الحيوية

Cloning and New Trends in Biotechnology

خطوات هندسة الكائنات الحية وراثياً

قبل أن نخوض ونتعمق فى هندسة الكائنات الحية وراثياً يجب التطرق إلى بعض المفاهيم الخاصة بتلك التقنيات٠

أولا: تصميم الخرائط الوراثية Genetic Maps Design

ويقصد به تحديد الموقع الطبيعى لجين ما أو العلاقة الوراثية على كروموسوم ما، والخريطة الخطية للمواقع النسبية للجينات على إمتداد الكروموسوم٠ ويمكن التعرف على المسافات الجينية من خلال تحليل الإرتباط، والتى تحدد التكرار والتى عندها تعتبر الموافع الجينية منفصلة أثناء إعادة التوليف الكروموسومى٠ ويمكن تشبيه تصميم الخرائط الوراثية بالعرض البياني المركز للمسافات النسبية ولكن معبراً عنها بالإتحادات الجديدة بين جينات المجموعات الإرتباطية الواحدة والمحمولة علي كروموسوم واحد والمقصود برسم الخرائط الوراثية هو تحديد المواقع النسبية لمقاطع المادة الوراثية (**DNA fragments**) المختلفة في المحتوي الوراثي للكائن وتحديد مدي إرتباط هذه المقاطع بالصفات الوراثية سواء الكمية التي تعتمد في توارثها علي العديد من الجينات مثل كمية المحصول أو النوعية التي تعتمد في توارثها علي جين واحد أو عدد قليل من الجينات٠

وتسمي هذه المقاطع من المادة الوراثية بالجينات وتلعب الخرائط الوراثية دور بارز في برامج التربية والتحسين الوراثي فهي تعتبر المرشد الذي عن طريقه يمكن أن يبدأ المربي برنامجه بخطي ثابتة واثقة آمنة حتى يصل إلي الهدف المنشود في أقصر وقت ممكن٠ فمثلا إذا إستطعنا أن نحدد مقطع أو مقاطع معينة من المادة الوراثية (**DNA**) يرتبط ظهوره بوجود صفة إقتصادية هامة مثل المقاومة لمرض معين أو زيادة كمية

المحصول٠٠٠ الخ٠ وعلى أيه حال، فإن طريق إجراء إختبارات علي مستوي DNA بإستخدام تقنيات البيولوجيا الجزيئية يمكن إنتخاب النباتات الحاملة لهذه المقاطع والتي ترشد المربي علي وجود الصفة المرغوب فيها مباشرة وبدقة مما يمكنه من الوصول إلي الهدف المنشود من برنامج التربية من خلال جيلين أو ثلاثة بدلا من ١ إلي ١٥ جيلا بإتباع الطرق التقليدية٠

١- الإرتباط الوراثى أو الخرائط الهجينة

Genetic Linkage or Hybrid Maps

تبنى الفكرة في الإرتباط الوراثى (الخرائط الإرتباطية) على إنه عند التهجين بين نباتين أو أي كائنين فإن نتائج التلقيحات بين أزواج الإليلات الجينية تكون ٥٠ % تراكيب أبوية وأقل من ٥٠ % تراكيب ذات إتحادات جديدة فإذا ما ظهرت النتائج لكثير من ٥٠ % تراكيب أبوية واقل من ٥٠ % إتحادات جديدة دل ذلك على وجود إرتباط لتلك الصفات أو بمعنى آخر وجود الجينات المسئولة عن تلك الصفات على كروموسوم واحد٠ وحيث إن الإتحادات الجديدة تحدث عند حدوث العبور بين الموقعين التى تقع فيهم الجينات فإن إحتمال حدوث العبور يتوقف على المسافة التى تفصل بين الجينات على الكروموسوم٠

٢- تهجين الأحماض النووية وخرائط التماثل

Nucleic Acid Hybridization and Homology Map

وهناك تقنيات حديثة تسمى تهجين الأحماض النووية **Nucleic acid hybridization and homologies** وهي طريقة يستدل بها على ترتيب أو تسلسل معين من القواعد النيتروجينية أو على جين معين فعند تسخين معلق من **DNA** مزدوج السلسلة والمحتوى على مجموعة من الجينات غير

المعروفة الوظيفة فإن الروابط الهيدروجينية بين أزواج القواعدالنيتروجينية تنكسر فتنفصل كلتا السلسلتين في كل جين وعند تبريد المعلق المحتوى على **DNA** فإن السلسلتين تعاودا الإرتباط لان كل منهما يميلا لتكملة بعضهما البعض تماما، فإذا تم خلط **DNA** من خلية ما مع **DNA** مصنع أو الحامض النووى **mRNA** مصنع حيث يعزل البروتين المسبب لظاهرة فسيولوجية معينة ويتم دراسة تسلسل وترتيب الأحماض الأمينية به وتعطى تلك البيانات إلى الكمبيوتر لإستنباط وتوقع تسلسل الجين المسئول عن هذا البروتين ثم يقوم جهاز **PCR** بتكوين شظايا الحامض النووى **DNA** أو **RNA** المتوقع، لكن نظرًا لوجود عدة إحتمالات لتتابع النيوكليتيدات داخل الجين محل الدراسة ونظرًا لأن الشفرة الوراثية للأحماض الأمينية ليست شفرة واحدة فللحمض الأميني أكثر من شفرة واحدة فإذا ما خلط **DNA** المصنع وحدث الإرتباط بين الجين المطلوب البحث عنة مع إحدى جزيئات **DNA** المصنع سمى الناتج **Homologous DNA** وتسمى تلك التقنية بإسم **DNA Hybridization** ويمكن جعل أحد الأحماض النووية الداخلة في تركيب **DNA** المستخدم في التعرف على الجين مشع **Radioactive** بذلك يمكن إصطياده ومن طبق الزراعة **Petri dish** الذي يتم تحضينه تحت التبريد لمدة ٢٤ ساعة وعليه لوحة من فيلم حساس ليظهر عليها تأثير القواعد المشعة لنتعرف على الجينات التى حدث لها تهجين فيتم عزلها وتنقيتها وإكثارها ثم إستخدامها في هندسة نبات آخر٠

٣- الخرائط الجزيئية Molecular Maps

تعد خاصية إعادة الإتحاد ذات فائدة كبيرة في البيولوجيا الجزيئية حيث تستخدم في قياس طول الكروموسوم ومعرفة عدد النيكلوتيدات حيث إنه تحت

الظـروف القياسـية فـإن الجينـوم الأكبـر حجمـاً سيأخذ وقتـا أطـول فـي إعـادة الإتحـاد عـن الجنيـوم الأصـغر، ومـن معرفـة الـزمن يمكـن تحديـد طـول الكروموسوم وعدد نيكليوتيداته، كما يمكن رسم خريطة لجزئ **DNA** إعتمـاداً علـى حقيقـة إن المنـاطق المحتويـة علـى **A ,T** تنفصل بمعـدل أسـرع نتيجـة إحتوائه على زوجين من الروابط الهيدروجينية عن المنـاطق المحتويـة علـى **C ,G** نتيجـة إرتباطها بثلاث روابط هيدروجينيـة ويمكـن التعرف علـى هذه المنـاطق تحـت الميكروسـكوب الإلكترونــي علـى شـكل عـروات **Loops** أو فقاعات **Bubbles** كما يمكن قياس المسافات بين العروات أيضـاً وبـين نـهايـة جزيئى **DNA**٠

٤- إستخدام الميكروسكوب الإلكترونى في رسم الخرائط الكروموسومية

عند الحصول على طفرة ما في النبات أو الحيوان ونريد التعرف علـى مكانهـا لتساعدنا علـى رسم الخـرائط الوراثيـة، يـتم عـزل **DNA** مـن كل من النبـات الطـافر والنبـات الـسليم بإسـتخدام حمـام مـائي علـى درجـة ١٠٠°م وبإستخدام مـادة قلويـة لترفـع **pH** إلـى ١١,٥ فيـتم هـدم **DNA** إلـى سلسلتين منفصلتين وعنـد خلـط **DNA** مـن كل من النبـاتين الطـافر والـسليم يـتم إعـادة إتحاد السلسلتين ولكن بصورة خليطـة ويحدث إنبعـاج لأحد الخيطـين **single stranded loops** لعدم تمكن الازدواج في الجين الطـافر بين أحد السلسلتين الـسليمة مـع السلـسلة الطـافرة والتــي يمكــن تحديـد مكانهـا علــى أي مــن الكروموسومات وطولها بواسطة الميكروسكوب الإلكترونـي٠

٥- خرائط الإنتشار الإنزيمي المقيد

Restriction Fragment Length Polymorphism

تستخدم فيها إنزيمات القطع المحددة أو إنزيمات الإندونيوكليز التى تقطع جزئ **DNA** في أماكن محددة عند تتابعات معينة من النيكلوتيدات حيث قام العالمان **Smith & Nathans** بتوصيف تلك الإنزيمات وقد حازا على جائزة نوبل عام ١٩٧٨ لإكتشافهم إنزيمات الإندونيوكليز المقيدة، وبإستخدام تلك الإنزيمات يمكن تقطيع **DNA** إلى قطع ويمكن تحديد حجم كل قطعة بإستخدام نظام التفريد الكهربي بإستخدام چيل البولى أكريميليد أو الأجاروز **lyacrylamide** أو **Agrose** نظراً لأن كل وحدة كروماتيدية سوف تحمل شحنة سالبة ناتجة عن مجموعة الفوسفات وعليه فإن معدل الهجرة لقطع **DNA** خلال عملية التفريد الكهربي يعطى مقياس دقيق لأطوالها حيث يتناسب معدل الهجرة عكسياً ونسبيا مع طولها، وتصبغ قطع **DNA** بصبغة الاثديوم بروميد **Ethidium bromide** حيث تربط الصبغة**DNA** وعند تعرضها للأشعة فوق البنفسجية يظهر **DNA** كوميض فلورسنتى فيسهل تعيينها وتصويرها وسوف نتناول ذلك بشئ من التفصيل لاحقاً.

ثانيا: دراسة تتابع النيكلوتيدات داخل الجين

Ultimate Structure Maps

لمعرفة التركيب المتناهي الدقة للخرائط فإن ذلك يتم بمعرفة تتابع النيكلوتيدات ومعرفة التسلسل النووى داخل الجين حتى يمكن إختيار إنزيمات القطع المحددة الواجب إستخدامها للحصول على الجين المطلوب وهو ما يعرف بإسم الخرائط الجينية فائقة الدقة **Ultimate Fine Structure Maps**، وقد إكتشف **Sanger** وزملاءه ١٩٧٦طريقة إنزيمية ومنهيات لسلسلة **DNA** لإنتاج قطع من **DNA** تكون نهايتها عبارة عن نيكلوتيدات خاصة تحتوى على سكر رايبوزى من نوع خاص هو **-2,3**

Dideoxyribolose حيث تشتمل ذرتى الكربون الثانية والثالثة على ذرة هيدروجين ناقصة لذرتي الأوكسجين وبدلاً من مجموعة **OH** على ذرة الكربون الثالثة والضرورية جداً ليستطيع إنزيم **DNA polymerase** من العمل على إتحاد النيكلوتيدات وتكوين رابطة الاستر بين مجموعة الهيدروكسيل بالسكر ومجموعة حمض الفوسفوريك في النيكلويتيدة التالية لتتكون سلسلة **DNA** الفردية قبل إتحادها مع مثيلتها لتكوين سلسلتين الحامض النووى **DNA** المزدوج الحلزوني٠ فإذا عزل جين ما فأريد معرفة تركيبه الدقيق وترتيب نيكلوتيداته، يتم وضع أجزاء **DNA** لإجراء أربعة تفاعلات متوازية لبناء خيط مكمل له بواسطة إنزيمات الإندونيوكليز والتي تقوم بفك حلزون قطع **DNA** (القالب) ونسخ صورة مرآة منه بإستخدام أربعة أنواع من النيكلوتيدات؛ ثلاثة منها نيوكليتيدات عادية والرابعة نيوكلتيدة من نوع **2,3-Dideoxyribolose** كمنهيات للتفاعل فيستعمل في التفاعل الأول ***in vito*** نيوكليتيدة **ddATP** وفى التفاعل الثاني نيوكليتيدة **ddGTP** وفى التفاعل الثالث نيوكليتيدة **ddCTP** وفى التفاعل الرابع نيوكليتيدة **ddTTP** وهى ذات نشاط إشعاعي حيث تحتوى على الفوسفور ٣٢ المشع فينتج عن التفاعلات قطع من **DNA** لكنها متقطعة دائما عند النهايات المستخدمة وعند فصلها بالتفريد الكهربي بإستخدام چيل البولى أكريميليد **polyacrylamide** يمكن تعيين موقعهم في الچيل بواسطة الإشعاع، وبذا سوف ينتج سلماً يشير إلى تتابعات النيكلوتيدات وسوف تذهب أقصر القطع إلى أطول مسافة أو أقرب جهة للانود (الألكترود الموجب) وستكون كل حزمة تالية محتوية على سلاسل أطول وهكذا يتم قراءة السلم في چيل **polyacrylamide** المستعمل في الفصل٠

ثالثاً: معالجة الجين المعزول لكى يعبر وراثياً عن نفسه

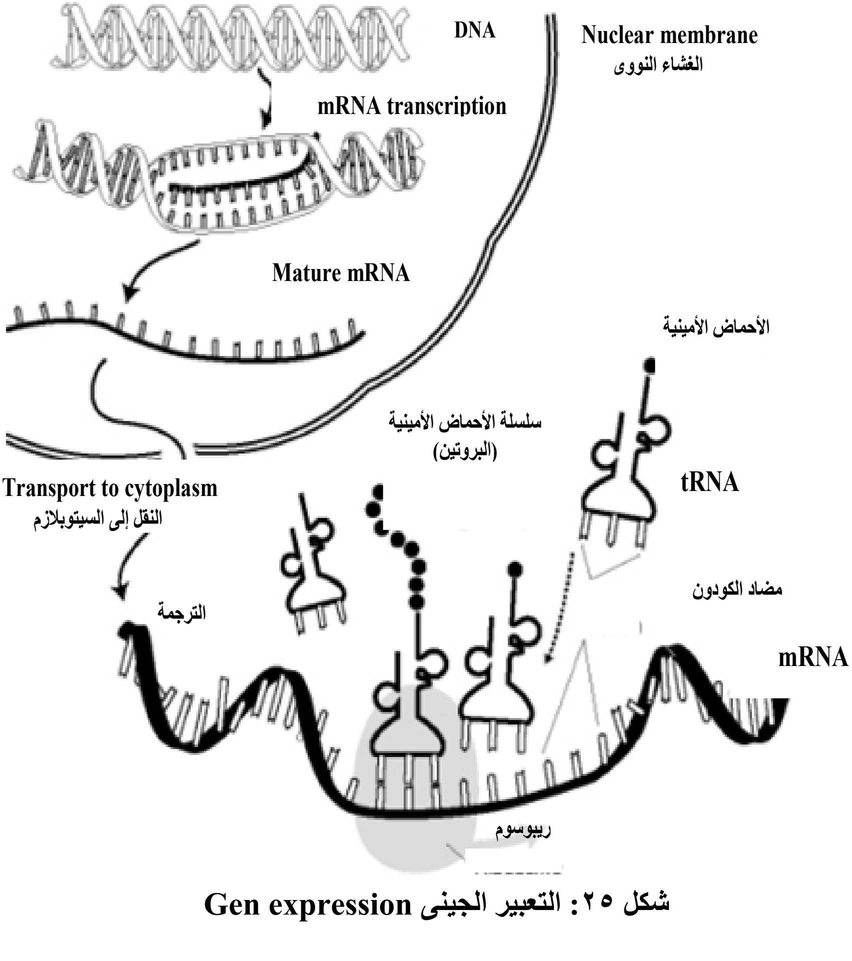
Gene Expression

لكي يتم تعبير الجين وراثياً أي نسخ الجين لنفسه وتكوين صورة على شكل الحامض النووى **mRNA** ليتم ترجمتها على الرايبوسومات لتكوين البروتين اللازم لإظهار صفة نباتية مرغوبة (شكل مظهري **Phenotype**) يجب أن يتكون هذا الجين من ثلاثة مناطق:

- **المنطقة الأولى** تسمى تسلسل المحفز **Promoter sequence** وهي تساعد في تحديد **توقيت عمل الجين** وموقع تعبير الجين فهي بمثابة شفرة للجين نفسه وتحدد مكان بدء نسخ الحامض النووى **RNA** الرسول (إبدأ من هنا) (شكل ٢٥)٠
- **المنطقة الثانية** هي منطقة التشفير وهى تحمل معلومات تحدد طبيعة البروتين الذي يشفره الجين التركيبى **Structure gene**٠
- **المنطقة الثالثة** والتي يطلق عليها منطقة الادينين المتعددة **Ploy adenylation (Poly-A)** وهى المسئولة عن إنهاء عمل نسخة الحامض النووى **tRNA** الرسول للحامض النووى **RNA transcript Messenger** على الوجه الصحيح وكأنها تقول للجين إنهى عملية النسخ هنا٠

ولحسن الحظ أن أمام المتخصص فى الهندسة الوراثية حرية واسعة في مزج هذه المناطق والموائمة بينهما وتجميعهما من جينات مختلفة لتنتج ما يسمى بالجينات الكيميرية أو الخليطه **Chimeric genes** وبذلك أمكن للمتخصصين فى الهندسة الوراثية إختيار محفزات متباينة فأمكنهم توجيه تعبير الجين إلى أعضاء بذاتها مثل الأوراق أو البذور أو الجذور أو الدرنات

بـل إلــى أنمــاط بـذاتها مـن الخلايـا داخـل النـسيج الواحـد٠ وقـد يـصمم الجـين الكيميرى أو الخليطـه مـن جينـات كائنـات مختلفـة فـالمحفز مـن فيـروس نبـاتي ومنطقـة التـشفير مـن بكتيريـا ***E. coli*** وموقـع تعـدد الادننـة **Poly A** مـن ***Agrobacterium*** ثم يتم الإيلاج في خلية نباتية تقوم بنسخ الحـامض النـووى **mRNA** لتترجمه الرايبوسومات **Ribosomes** لتنتج البروتينات٠



شكل ٢٥ : التعبير الجينى Gen expression

رابعاً: مرحلة تطعيم الجين وإكثاره Gene Cloning

تأتى مرحلة تطعيم الجين الذي تم تركيبة على بلازميد خلية بكتيرية والبلازميدات هي تراكيب وراثية غير كروموسومية للبكتيريا وهى عبارة عن جزيئات من **DNA** تتضاعف مستقلة عن الكروموسوموم في النواة غير الحقيقية وتحتوى تلك البلازميدات على موروثات تمكنها من الإنتقال من خليتها المانحة **Donor cell** إلى خلية أخرى لذلك تسمى تلك البلازميدات بالبلازميدات المعدية أو بلازميدات الإتصال٠ وقد تتصل بعض البلازميدات بكروموسوم الخلية عن طريق عملية إتصال مزدوج (عبور وراثي) **Crossover** وعند إتصال البلازميد مع كروموسوم الخلية فإنه لا يتضاعف أو ينسخ مستقلا بذاته بل يصبح تضاعفه مرتبطا بتضاعف الكروموسوم ثم بعد التضاعف تعيد إستقلاليتها عن الكروموسوم وهى نفس خاصية الفيروسات المعتدلة **Temperate Viruses** والتي إستخدمت في هندسة الكائنات الأخرى وراثياً عبر النهايات اللاصقة لإنزيم قطع واحد حيث يتم القطع فى نفس المكان من التتابع فيؤدى ذلك الى تكوين نهايات لاصقة يمكن بواسطتها لحام قطعة من **DNA** المعزول الى جينوم الكائن المهندس وراثياً٠

ويمكن التخلص من البلازميدات بعد قيامها بدورها كناقل **Vector** دون قتل الخلايا الحاوية للبلازميدات وذلك بعملية المعالجة **Curing** عن طريق تثبيط إنقسام البلازميد أثناء إنقسام الخلايا النباتية مثلا في معلق الخلايا فيتم تخفيف البلازميدات في المستعمرة وذلك بإستخدام ملح بروميد الإيثديم **Ethidium bromide** ولقد أمكن إستغلال البلازميدات كناقل لإيلاج الجينات في جينوم كائن آخر حيث أن البلازميد تخترق النواة عند إنقسامها وتقوم بفرد حلقتها ولصقها بإحدى كروموسومات النواة فعند تضاعف

الكروموسوم أثناء الإنقسام يتم عمل نسخة إضافية من البلازميد الذي سرعان ما ينفصل عن الكروموسوم ويخرج من النواة إلى السيتوبلازم الجديد مرة أخرى، ويتم إختيار البلازميد الذي يحتوى على علامة **marker** كأن يكون محتوى على جين لمقاومة للإستربتوميسين أو ينقل للبلازميد جين مقاوم للمضاد الحيوي كاناميسين ثم يتم فتح حلقة البلازميد بإستخدام إحدى إنزيمات القطع المحددة وينقل اليها الجين الجديد المرغوب إكثاره وتطعيمه عن طريق إنزيم اللصق أو اللحام الليجيز، ثم يتم إلتحام الجين الجديد بحلقة البلازميد ثم يتم إيلاج البلازميد المطعوم إلى داخل بكتيريا ***E. coli*** أو ***Agrobacterium tumefaciens*** التى تتكاثر بسرعة هائلة فيتم مضاعفة عدد البلازميدات المحتوية على الجين الجديد ولتميز الخلايا البكتيرية المحتوية على البلازميد المطلوب يتم معاملتها بأحد المضادات الحيوية إستربتوميسين أو الكاناميسين فخلايا البكتيريا التى تقاوم تكون هي المحتوية على الجين المطلوب.

خامساً: نقل الجين إلى الجينوم Transformation

هناك طرق عديدة لنقل الجين المعزول وإيلاجها في جينوم الكائن المرغوب هندسته نوجزها في التالي:

١- النقل بواسطة البكتيريا *Agrobacterium tumefaciens*

أول نظام لهندسة النباتات وراثياً وهو الأوسع إستخداماً هو نقل الجين المرغوب إلى النبات بإستخدام قدرة البكتيريا ***Agrobacterium tumefaciens*** الممرضة في نقل جزء من **DNA** إلى خلايا النبات وتقوم البكتيريا بنقل جزء من **DNA** لديها (أو الخاص بها) تسمى **Transferred DNA (tDNA)** بالإندماج فى كرموسومات النبات المصاب لتدفعه إلى إنتاج الهرمونات النباتية لترفع مستواها في تلك الخلايا إلى المستوى الذي

يؤدى إلى سرعة تكاثر الخلايا وتكوين كتل من الخلايا والتي تعرف بالتورد القمى **Crown Gall** (شكل ٢٦)٠

شكل ٢٦: تكاثر الخلايا وتكوين كتل من خلايا بالتورد القمى

ليصبح هذا التورد مكان صالحاً وبيئة ملائمة ومصدر غذائي لتلك البكتيريا فيما يعرف بمرض التورد القمى **Crown gall disease** ولكي تكون تلك البكتيريا فعالة كأداة للنقل الجينى لابد من إستئصال جيناتها المسببة للمرض بمعنى نزع سلاحها **disarming**٠ ولقد نجح **Mary Dell Chilton** سنة ١٩٨٣ وآخرون من شركة مونسانتو وجامعة واشنطن من إستئصال الجينات الممرضة دون المساس بآلية نقل **DNA** وبالرغم من بساطة الطريقة ودقتها إلا أن كثير من المحاصيل من بينها محاصيل الحبوب مثل الأرز والقمح والذرة ليست من عوائل الأجروبكتريوم لذلك تم البحث عن نظم بديلة (شكل ٢٧)٠

ب- دمج الجينات إلى خلايا البروتوبلاست

Competent Cells Technique

فـى هـذه التقنيـة يـزال جـدر الخلايـا لأن ثقـوب الخليـة الموجـودة بجـدر الخلية أصغر من أن تسمح **DNA** بأن تمر بسهولة أما عندما تـزال الجدر فلن يعيق نقل **DNA** سوى الغشاء البلازمي والذي يمكن لمركب عضوي مثل البـولي إثيلين جليكـول **(PEG)** مـن تـسهيل إختـراق **DNA** للغشاء البلازمـي وهو أكثر العوامل المساعدة شيوعاً فى أداء هذا العمل كما يمكن دمج **DNA** فـى خلايـا البروتوبلاست بواسطة الثقب الكهربـي **Electroporation** وفـى هذه الطريقة تقوم نبضات كهربائية قصيرة بأحداث ثقوب سريعة الزوال فـي غشاء الخلية العارية يمكن أن تمر جزيئات **DNA** من خلالها لكن تلك التقنيـة أي عزل البروتوبلاست وجد أنها تقنية صعبة في كثير من الحبوب وينتج عنها نباتات عقيمة.

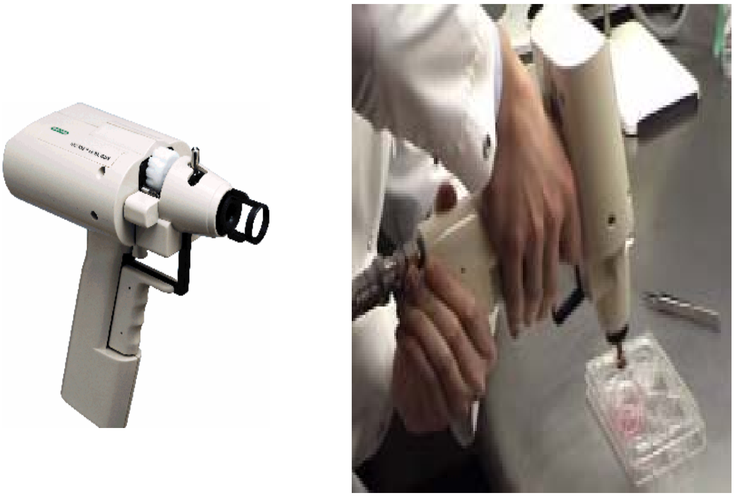
ج- طريقة الحقن المجهري Microinjection Technique

طريقة الحقن المجهري **Microinjection** تتم بإستخدام إبر خاصـة لحقن المـادة الوراثيـة داخـل نـواة الخليـة تحـت ميكروسـكوب خـاص يـسمى **Micro manipulator** وإستخدمت تلك الوسيلة في نقل **DNA** ولكن وجد أنها تقنية غير عملية لأسباب عدة منها أن طرف الإبرة المستخدمة عادة ما ينسد أو ينكسر بسهولة كما أن إدخال **DNA** للخلايا عملية مجهدة ولا تلائم العمل التجاري ولا يمكن بها ضمان إلتحام الجين المنقول إلـى جينـوم الخليـة (شكل٢٨).

شكل ٢٨: الحقن المجهري

د- تقنية المسدس الجينى Gene Gun Technique

وهى طريقة لقذف الخلايا النباتية بالمادة الوراثية المنقولة بعد تغليفها لجسيمات معدنية فلزية ذات أقطار ١-٢ ميكرون مثل كريات الذهب٠ يتم قذف تلك الجسيمات بسرعة عالية بإستخدام **Gene gun** (المسدس الجينى) لتخترق طلاقاته جدر الخلايا وتنقل الجين المرغوب (شكل ٢٩)٠



شكل ٢٩: تقنية قاذفات الجسيمات الدناوية

ونظراً لأن الثقوب التى يحدثها القذف السريع صغيرة للغاية فهذه الثقوب تكون مؤقتة ولا تعرض سلامة الخلايا للخطر ويتكون المسدس الجينى **gene gun** من قاذف خرطوشي عيار ٠,٢٢ مم كقوة دافعة يحتوى على بارود فقط٠

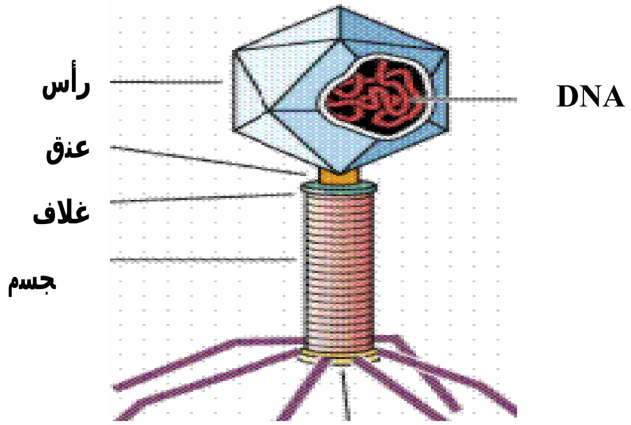
هـ- النقل بالفاج Phage Transportation

سميت ظاهرة إنتقال صفة وراثية من خلية بكتيرية إلى خلية بكتيرية أخرى بواسطة الفاج بإسم النقل بالفاج **Transudation** حيث تندمج قطعة من كروموسوم بكتيري داخل جسم الفاج وعندما يغزو الفيروس خلية عائل جديد فإن الخلية المستقبلة تنقل على كروموسومها القطعة التى في حوزة الفيروس ومن أشهرها **Lambda phage** (شكل ٣٠)٠

فعند مهاجمة هذا الفيروس لبكتيريا القولون ***E. coli*** فإن الخلايا تظل فترة وهى في طور القدرة الكامنة للتحلل **Lysogenic** حيث تحتوى على نسخة من **DNA** الفيروس مندمج مع كروموسوم الخلية بين موقع الجين جلكتوز وموقع الجين البيوتين فإذا ما عرضت الخلايا إلى الحث **Induction** فإن الفيروس قد ينفصل عن كروموسوم الخلية من نفس النقطة التى إتصل بها بالكروموسوم بعملية عكس عملية الإندماج ليبدأ في مضاعفة نفسه وتكوين الفيريونات الكاملة٠

قد تنفجر الخلية ولكن في حالات أخرى لا ينفصل الفاج الأولى من نفس نقطة الإتصال بل من أماكن أخرى لذا تحتوى حلقته على **DNA** الفيروس مضافا إليه قطعة من كروموسوم الخلية فإذا إحتوى الفيروس على جين الجلاكتوز سمى الفيروس بإسم فاج لامبدا ناقصة الجلاكتوز (وتسمى بذلك الإسم ناقصة **defective**) حيث أن كمية **DNA** التى يمكن تعبئتها في الغطاء

البروتيني للفاج ثابتة ومحددة فإن إضافة موروث الجلاكتوز تعنى بالضرورة إستبعاد جزء من موروثات الفاج لامبدا من ناحية أخرى مما يؤدى إلى نقصها لصفات وراثية وهو ما يفسر عدم القدرة على الحصول على فاج يحتوى على أكثر من موروث أو جين واحد٠



شكل ٣٠: النقل بالفاج لامبدا

وعند إستخدام هذه الفاجات لإصابة خلايا بكتيريا ليس لها القدرة على تمثيل الجلاكتوز فتتحول الخلايا إلى خلايا لها تلك القدرة على فصل الجينات التى تم إنتقالها بالفاج٠

سادسا: زراعة الأنسجة النباتية Plant Tissue Culture

قد تستخدم الأجزاء نباتية **Explants** بعد معالجتها بالهندسة الوراثية فى الإستزراع على بيئات فى مزارع إختيارية معقمة وتحفظ معملياً ***in vitro*** للحصول على نباتات مهندسة وراثياً بالكامل٠ كان إجراء الأبحاث على الحمض النووي حتى سنة ١٩٧٠م من أصعب الأمور التي كانت تواجه

علماء الوراثة والكيمياء. وكانت معظم الأبحاث تجرى بشكل غير مباشر على الحمض النووي الريبوزي والبروتين. ولكن تحول الحال بشكل كامل فأصبح علم الوراثة المتعلق بفحص **DNA** والمعروف بعلم الوراثة الجزيئية من أسهل العلوم وأكثرها تطوراً. ولقد أصبح من السهل صنع نسخ عديدة من أي جين (مورث) أو مقطع محدد من **DNA** ، كما أمكن معرفة تسلسل الأحماض النووية بسرعة تتعدى المئات في اليوم الواحد. كما إستطاع العلماء إستكشاف الجينات الموجودة على الكروموسومات كما إستطاعوا تغييرها وتعديلها حسب الشكل المراد وليس هذا فحسب بل إستطاعوا أن يعيدوا هذه الجينات المعدلة إلى الخلية وغرزها في الكروموسوم المراد.

كما أمكن إنتاج كميات كبيرة من البروتينات كالهرمونات واللقاحات المختلفة والتي كانت تنتج في السابق من جثث الموتى أو تستخلص من الحيوانات والتي كانت تحفها المخاطر من إنتقال العدوى إلى الإنسان. كما فتحت هذه الثورة العلمية المجال أمام الكثيرين من محبي هذا العلم في إختراع وإكتشاف طرق جديدة وحديثة في التعامل وحفظ وتغيير هذه المادة الحيوية في الإنسان والحيوان والنبات. ولقد غير هذه العلم المنطلق كالصاروخ الكثير من المفاهيم الطبية والتي دفع كثير من كليات الطب إلى تعديل مقرراتها لتزويد طلابها بالمزيد من هذا العلم. ولقد أطلق على عملية نسخ وتعديل وزرع الجينات إسم الهندسة الوراثية **Genetic Engineering** وهو إسم عام لا يحدد فكرة معينة أو تقنيه محدده، ولكنه يعني بكل ما يقام به من تغيير أو تعديل المادة الوراثية. ويتفرع من هذا العلم الكثير من التقنيات وهي متناثرة وموزعة على الكثير من فروع الطب والعلوم.

وفيما يلى أهم خمس تقنيات تختص بالهندسة الوراثية والتكنولوجيا الحيوية:

١- قص أوقطع الحمض النووي **Cleavage of DNA** بإنزيمات خاصة تعمل كمقصات وتسمى **Restriction Nucleases** وساهم إكتشاف هذه المقصات كثيرا في مهمة التحكم في **DNA**٠

٢- فصل **DNA** المقطوع على لوح من الچل بإستخدام تقنية التفريد الكهربائى **Gel electrophoresis** ومن ثم معرفة التسلسل النووي **DNA sequencing** لكل القطع التي يتم عزلها بشكل سريع ودقيق، والتي تسمح للعلماء بمعرفة التركيب البنائى للجينات ومعرفة وإستنتاج نوع البروتين الذي ينتج منه٠

٣- تقنية تهجين الحمض النووي **Nucleic acid hybridization**، والتي تمكننا في معرفة أحجام القطع من الحمض النووي والكشف عن القطع المحددة من الحمض النووي في خليط معقد من القطع المتشابهة٠

٤- إستنساخ المادة الوراثية **DNA cloning** والتي تسمح بإنتاج نسخ عديدة ومتطابقة من قطع **DNA** ٠

٥- تقنية هندسة أو تعديل **DNA** والتي تسمح بإنتاج نسخة معدلة من جين ما ثم أعادته مرة أخرى إلى الخلية٠

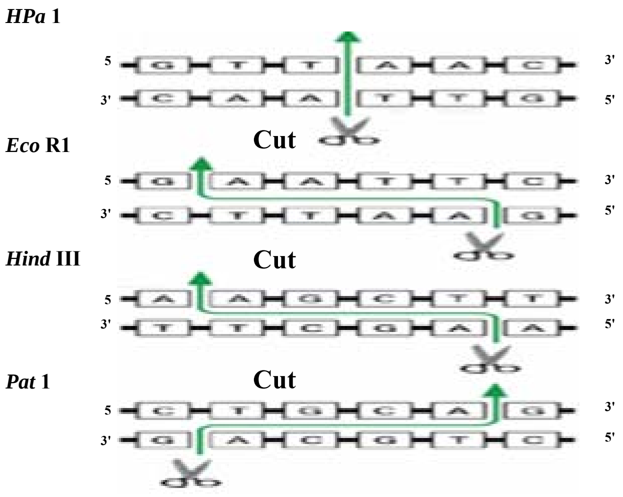
١- قص وقطع الحمض النووي Cleavage of DNA

كما هو معروف فإن البروتينات توجد داخل الخلية على شكل قطع منفصلة عن بعضها البعض وهذا بالطبع يسهل عملية فصلها بطرق تقنية مناسبة٠ ولكن الجينات موجودة على الكروموسومات على شكل حبات متصلة ببعضها البعض وليست على شكل قطع منفصلة٠ وهذا التسلسل والترابط في

الجينـات جعل عمليـة فصل وعزل وإستخلاص جين محدد عن بقيـة الجينـات مهمة صعبة إن لم تكن مستحيلة حتى قبل عام ١٩٧٠، ولكن إكتشاف الإنزيمات القاطعة **Restriction Nucleases** ساعد في عملية إستخلاص الجينـات وقطـع **DNA** ونسخها٠

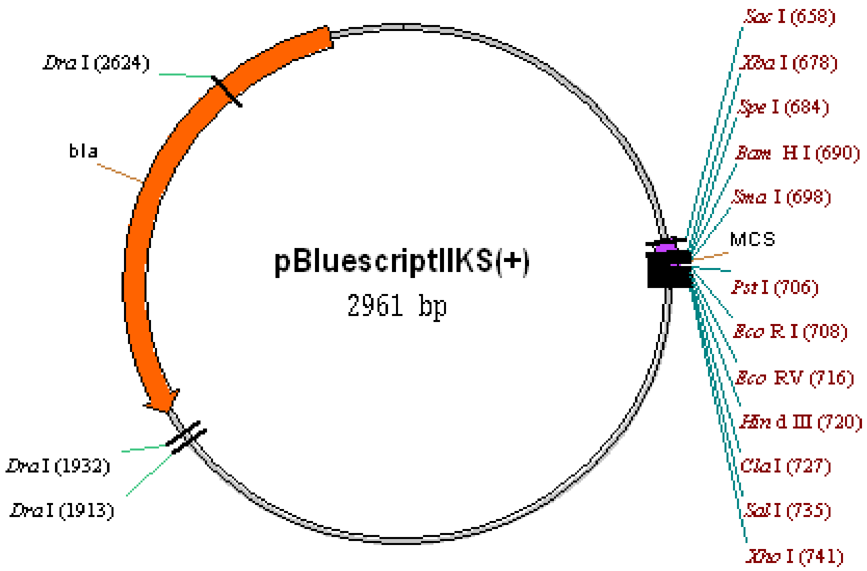
• الإنزيمات القاطعة Restriction Nucleases

لا شك أن لكل كائن حي طرق دفاعية مختلفة تحميه من غـارات الأعـداء وهجوم المعتدين، فالبكتيريا هي إحدى هذه الكائنات والتى لها أعداء كثيرة ومـن أهم أعدائها الفيروسات المختلفة٠ ولقد قامت بعض من البكتيريا بإنتاج إنزيمـات مهمتها تدمير الفيروسات٠ وتقوم هذه المقصات أو أدوات القطع بقص الحمض النووي للفيروس وبذلك يشل عمله ويبطل مفعولة٠



شكل ٣١: الإنزيمات القاطعة

وبما أن **DNA** مادة موجودة بشكل طبيعي في البكتيريا كما هو الحال في الفيروسات والكثير من الكائنات الحية فإن هذه المقصات قد تشكل خطرا على البكتيريا نفسها عند قصها **DNA** الخاص بها (شكل ٣١- ٣٢)٠



شكل ٣٢: مثالاً للإنزيمات القاطعة

ولكن هذا لا يحدث والسر في ذلك هو قيام البكتيريا بتحوير أجزاء من **DNA** الخاص بها عن طريق إضافة مجموعة الميثيل **Methyl** إلى بعض الأحماض النووية من نوع الأدينين أو السيتوسين **Methylation at A or at C** ومن ثم لا يستطيع المقص أو القاطع من قص الحمض النووي الخاص بالبكتيريا٠ وعند إكتشاف هذه القواطع في السبعينيات من القرن العشرين بدأ العلماء في إستخدامها كمقصات لقص **DNA**٠ وساعدتهم هذه المقصات في عملية التحكم في المادة الوراثية **DNA**٠ ويوجد حاليا أكثر من مائه نوع من هذه المقصات (شكل ٣٢)٠ وتقسم هذه المقصات إلى نوعين رئيسيين، النوع

الأول يقص شريط **DNA** لمزدوج بشكل رأسي مستقيم **Blunt ends** والنوع الثاني يقص بشكل متعرج **Staggered cuts** وبالتالي يجعل طرفي **DNA** المقطوع مادة قابلة "للصق قطعة غريبة من **DNA** فيها"٠ وعن لصق قطعة من **DNA** في داخل الفراغ الناتج من القطع ينتج لنا قطعة مركبة من قطعتين مختلفتين من **DNA** وهذه القطعة تسمى **DNA** معاد التوليف (هجين) أو **Recombinant DNA**٠

- **والسؤال هنا هو كيف يتعرف الإنزيم القاطع على المكان المفترض أن يحدث القطع فيه؟**

كل إنزيم قاطع يعبر عن مقص خاص لقطع **DNA** في نقطة محددة٠ ويتعرف الإنزيم القاطع على مكان القطع حسب تسلسل **DNA** للقطعة٠ فكل إنزيم قاطع يقطع في تسلسل محدد٠ فمثلا الإنزيم القاطع المعروف بالهيبا و احد ***Hpa* I** يقطع عندما يجد ٦ من الأحماض الأمينية في هذا التسلسل **GTTAAC** بينما الإنزيم القاطع إيكو أر واحد ***Eco* RI** يقطع عندما يجد ٦ من الأحماض الأمينية في هذا التسلسل **GAATTC**٠ وللمعلومية فإن هيبا واحد سمي بهذا الإسم لأنه يوجد في بكتيريا الهيموفلس بارا إنفلونزا ***Hemophilus parainfluenzae*** وهذا الإنزيم يعتبر من الإنزيمات التي تقطع بشكل رأسي مستقيم، بينما إنزيم الايكو آر واحد ***Eco*RI** فهو مأخوذ من بكتيريا ***E. coli***، ويعتبر من الإنزيمات التي تقطع بشكل متعرج٠

ويوضح جدول (٢) تسلسل مواقع القطع Recognition sites لبعض الإنزيمات القاطعة كالآتى:

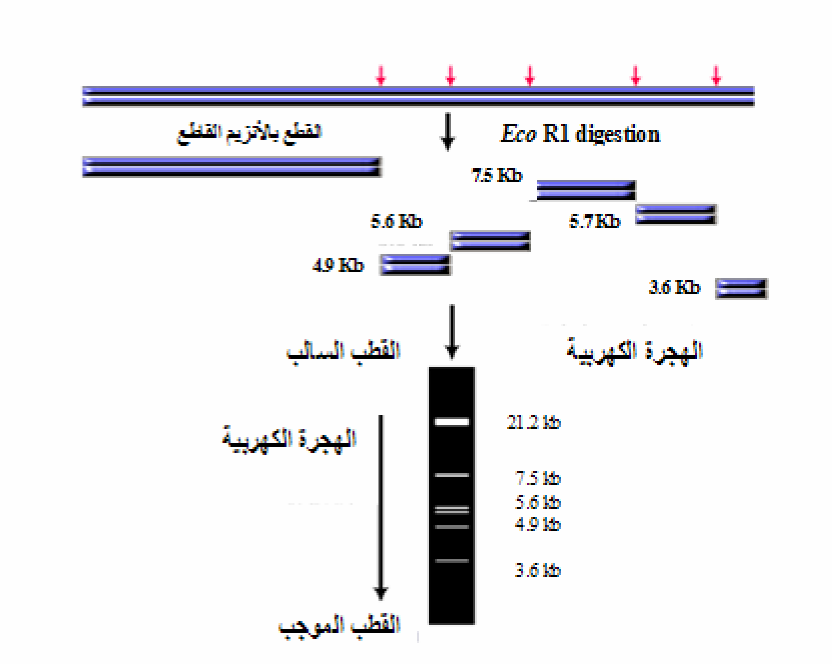
الإنزيم القاطع	المصدر	المقطع الذي يميزه القطع
***Bam*HI**	***Bacillus amyloliquefaciens*** H	**GGATCC**
***Eco*RI**	***Escherichia coli* RY13**	**GAATTC**
***Hae*III**	***Haemophilus aegyptius***	**GGCC**
***Hind*III**	***Haemophilus influenzae* Rd**	**AAGCTT**
***Hpa*I**	***Haemophilus parainfluenzae***	**GTTAAC**
***Hpa*II**	***Haemophilus parainfluenzae***	**CCGG**
***Mbo*I**	***Moraxella bovis***	**GATC**
***Not*I**	***Nocardia otitidis-caviarum***	**GCGGCCGC**
***Sfi*I**	***Streptomyces fimbriatus***	**GGCCNNNNNGGCC**

- **القطع المحددة Restriction Fragments**

عندما يضاف الإنزيم القاطع إلى محلول به شريط من **DNA** فإنه يقطّعه إلى عدة قطع وليس إلى قطعتين فقط. وكل قطعة مقطوعة بالإنزيم تسمى قطعة محددة. ويختلف طول هذه القطع حسب المسافة التي بين كل مقطع وآخر. ولكن يجب أن تكون كل قطعة محددة لها نفس الحجم في كل نوع من الكائنات الحية. وذلك يعني أن للإنسان قطعة محددة معينه يقطعها الإنزيم القاطع ***Hpa*I** واحد في الكروموسوم، ويمكن التأكد من ذلك بتحليل قياس لهذه القطعة بتقنيه حركة **DNA** الكهربائية على الچيل (شكل٣٣).

وإذا أفترض أن إنسان ليس لديه نفس الحجم المفترض لقطعة ما من **DNA** ففي هذه الحالة نستنتج أن بهذا الشخص طفرة (تغير في تسلسل **DNA**)

في أحد لأماكن التي كان من المفترض أن يقصها الإنـزيم ومـن ثـم لـم يـتم القطـع فيها٠ وبذلك فإن حجم القطعة يكون قد إختلف وتعرف هذه الظـاهرة عنـد علمـاء الوراثة بتفاوت القطـع المحددة المصحوب بطفرة **Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)** ولقد أنـشأ العلمـاء خريطـة تـسمى خريطة القطع المحددة لكثير مـن الكائنـات الحيـة كمـا ذكـر مـن قبـل أو تبـين هـذه الخريطة مكان القطع ومحلها مقارنـة بـالقطع الأخـرى، وتـم عمـل هـذه الخريطـة عن طريق تقطيع جميع الكروموسومات بإضافة أنواع مختلفة من الإنزيمات



شكل ٣٣: قطع DNA بإنزيمات القطع على لوح چيل الأجروز

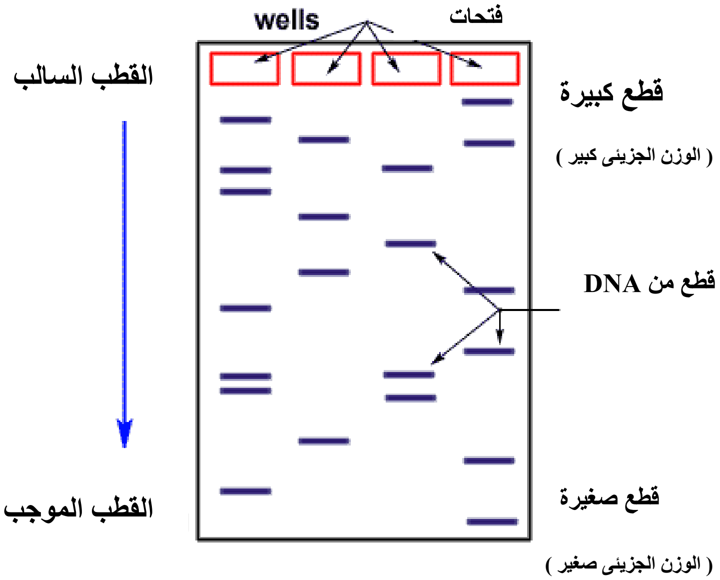
القاطعة ثم رتبت هذه القطع بشكل منتظم٠ وكـان الهـدف مـن هـذه الخريطـة هـو تحديد نقاط وعلامـات علـى طـول الشريط الطويل من **DNA** التـي تتركـب منـه الكروموسـومات وعنـد المقارنـة بـين هـذه القطـع فـي الكائنـات المختلفـة٠ ولقـد

وضعت هذه القطع على لوح من الأجروز وفصله وأخرج حجمها كما هو موضح في الشريط الأسود، ويمكن وضع هذة القطع على لوح الچيل وفصلها إلى وحدات أصغر ٠

• قطع DNA على لوح من الچل بالتفريد الكهربي

Gel Electrophoresis

إستعمل العلماء تقنية فصل البروتينات عن بعضها البعض عن طريق تحركها على الچل (هجرة كهربية) وإنفصالها عن بعضها البعض حسب الوزن الجزيئى لها فى صورة حزم **bands or fragments** وكذلك حسب الشحنة الكهربية الموجودة على الحزم ، وذلك عن طريق تعريضها إلى تيار كهربائي وهي على لوح من المادة الهلامية المعروفة بالچل٠ ولقد إستعمل العلماء نفس الفكرة في فصل قطع **DNA** عن بعضها البعض (شكل ٣٤)٠



شكل ٣٤: قطع DNA على لوح من الچل بالكهرباء

ومن المعروف أن للحمض النووي شحنة سالبة ولذلك فعند وضع بعض من **DNA** في طرف من أطراف قالب الچيل ثم تعرض لسريان تيار كهربائي بحيث يكون القطب السالب عند الطرف الذي وضعنا فيه **DNA** والقطب الموجب عن الطرف الأخير من القالب فإن **DNA** ينتقل تلقائيا بإتجاه الطرف الموجب٠ وتتوقف حركة قطع أو حزم **DNA** على حسب أحجامها على طول اللوح٠ فالقطع أو الحزم الصغيرة تتحرك بشكل أكبر من القطع الكبيرة٠ وبذلك يمكن فصل هذه القطع عن بعضها البعض٠ ويمكن تحديد الحجم الفعلي لكل قطعة أو حزمة عن طريق إضافة قطع معروفة الحجم من **DNA** والتي تكون بمثابة مقياس يرجع إليه لإستنتاج أحجام القطع٠ وعلى أية حال هناك نوعان أساسيان من ألواح الچل، الأول يسمى بچل الأجروز **Agarose gel** والثاني بچل البولي أكريلاميد **Polyacrylamide gel**٠

ونظراً لصغر الفراغات التي بين جزيئات الأجروز فإنه يستخدم لفصل القطع الصغيرة الحجم من **DNA** وفي العادة التي تكون أصغر من ٥٠٠ جزيء من الحمض النووي والتي تتفاوت بين بعضها البعض بجزيء أو جزيئين٠ بينما يستخدم البولي أكريلاميد للأحجام الأكبر من **DNA** والتي يتراوح حجمها بين ٣٠٠ إلى ١٠٠٠٠ جزيء من **DNA**٠ ومادة الأجروز هي مادة كربوهيدراتية مستخرجة من الطحالب وعند تحضيرها فإنها تشبه في قوامها الچيلي الذي نأكله ولكنها أقوى في قوامها بعض الشيء ولكنها قابلة للتهتك أو الانقطاع عند التعامل معها بلا حذر٠

ولقد واجهه العلماء صعوبات في فصل القطع الكبيرة من **DNA** وذلك لأن هذه الشظايا وعند وضعها على چل الأجروز وبعد توصيل التيار الكهربائي إليها تتوقف لأنها تتمدد بشكل متعرج على شكل ثعبان ملتوي بإتجاه القطب السالب والآخر بإتجاه القطب الموجب٠ ولقد حلت هذه المشكلة عن

طريق تعريض چل الأجروز إلى مستويات متفاوتة من القوة الكهربائية على طول اللوح وبذلك فإن قطعة **DNA** الطويلة عندما تتعرض إلى تيار كهربائي مختلف يجعلها تعدل من تمددها المتعرج قبل أن تدخل في التيار الكهربائي الجديد ويستمر هذا التفاوت في التيار والتعديل في قوام القطعة حتى تصل إلى المكان الذي يجب أن تقف فيه حسب حجمها٠ ويسمى هذا النوع من الفصل بالفصل عن طريق المجال الكهربائي المتردد **Pulsed-field**٠

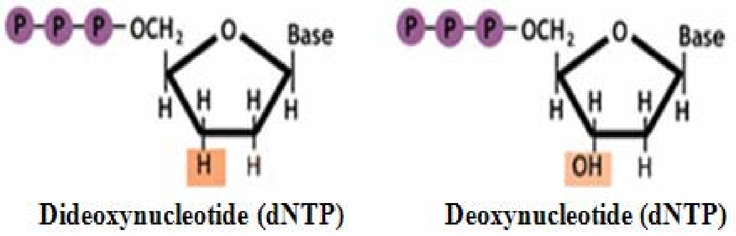
ولقد مكنت هذه التقنية من فصل قطع كبيرة من **DNA** وحتى فصل قطع من الكروموسومات على الچل وتتراوح القطع التي يمكن فصلها بهذه الطريقة بين ٢٢٠٠٠٠ إلى ٢٥ مليون جزيء من **DNA**٠ وتجدر الإشارة أن القطع المفصولة بالبولي أكريلاميد والأجروز لا تكون واضحة للعيان ولذلك يجب تعرض لوح الچل للصبغ بمادة بروميد الإثيديوم **Ethidium bromide** والتي تلمع عند تعريضها للأشعة فوق البنفسجية٠ وهناك طريقه أكثر دقه لمشاهدة القطع على لوح الچيل وهذه الطريقة تعتمد على إضافة مادة مشعة نووية إلى **DNA** قبل أن يوضع على لوح الچل ولكن هذه الطريقة تحتاج إلى إحتياطيات معينه لكي لا تضر من يستخدمها٠

- **معرفة التسلسل النووي DNA Sequencing**

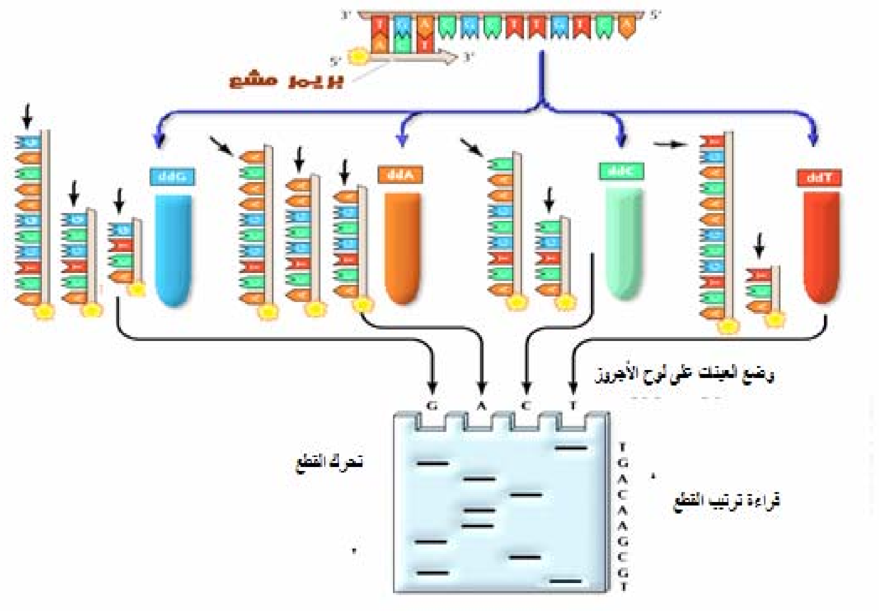
لا شك أن العلماء يحتاجون إلى معرفة التركيبة التسلسلية لكل جين وهذا يمكنهم من معرفة المزيد عن البروتين الذي يصنعه ذلك الجين وعن التركيبة التنظيمية لعمل الجين وقد يصلون على ضوء ذلك إلى معرفة الأمور التي تتحكم في عمله (شكل ٣٥)٠ كما أنه بمعرفة التسلسل النووي للجين يمكن مقارنته بالجينات التي سبق إكتشافها، وقد يعطي هذا معلومات غزيرة عن وظيفة هذا الجين ويختصر الكثير من الأبحاث ويتجنب إعادة إجرائها٠ ومن

الطـرق الأكثـر شـيوعاً لمعرفـة التسلسل النـووي لأي قطعـة مـن **DNA** هـى الطريقـة الإنزيميـة **The enzymatic method**، ويطلـق علـى هـذه الطريقـة أيضاً طريقـة سـانجر **Sanger procedure** نسبة إلـى سـانجر الـذي أسـس هـذه الطريقة. كما أنها أيضاً تعرف بالتسلسل عن طريق دي ديوكسي **dideoxy sequencing**.

وترتكز هذه الطريقة على مفهوم أن شريط **DNA** في الأساس تكون من جزيئات من الديوكسى نيوكلويتيد. ويختلف الديوكسي نيوكلويتيد عن دي



الفرق بين الديوكسي نيوكلويتيد عن الدي ديوكسي نيوكلوتيد



شكل ٣٥: الطريقة الإنزيمية لمعرفة التسلسل النووى

ديوكسي نيوكلوتيد بعدم وجود مجموعة (هيدروكسيل) في النقطة الثالثة من حلقة السكر الخماسية الشكل٠ ويوجد على النقطة الثالثة من حلقة السكر الرايبوزي مجموعة هيدروكسيليه (**OH**) وهذه النقطة هي التي ترتبط في النقطة الخامسة من الجزيء الذي يليها وهكذا يتم الترابط لتكوّن شريط طويل من **DNA**٠ ولقد قام سانجر بالإستفادة من هذه الخاصية فبدّل الجزيء من (**OH**) إلى (**H**) عن طريق إضافة دي ديوكسى نيوكلوتيد (**ddNTPs**) بدل من ديوكسي نيوكلوتيد (**dNTPs**) وذلك عن طريق نسخ الشريط مرة أخرى ويؤدي هذا الى توقف ترابط الجزيئات ويكون في طرف كل جزيء نوع واحد من الأحماض النووية٠

وفيما يلى الخطوات الأساسية للقيام بهذا الإختبار بالترتيب:

١- القيام بنسخ **DNA** وذلك على الشكل التالي:

أ- يضاف إلى عينة **DNA** قطع من بريمر متخصص **specific primer** والذى سوف يلصق **DNA** المراد نسخة ومعرّف (ملتصق بطرفه) بعنصر مشع٠

ب- تقسم العينة إلى أربع أنابيب إختبار وكل أنبوبة يكتب عليها الإسماء التالية **dGTP, dATP, dCTP, and dTTP**

ت- يضاف إنزيم **DNA** البوليمريز **DNA Polymerase**

ث- يضاف إلى كل أنبوبة نوع واحد من الدي ديوكسي نيوكليتيد حسب إسم الأنبوب٠ ويضاف معه كمية من ديوكسي نيوكليوتيد، وبذا سوف يحدث التفاعل ويبدأ البريمر ببناء وتركيب ورص هذه الأحماض الأمينية٠ وعند إضافة الدي ديوكسي نيوكليتيد فإن الشريط يتوقف عند هذه النقطة، ثم يحدث تفاعل أخر لنسخ شريط أخر، وعند إضافة دي ديوكسي نيوكليتيد يتوقف

التفاعل وهكذا تستمر العملية وينتج في النهاية قطع منسوخة ومتفاوتة الطول في كل أنبوب إختبار ٠

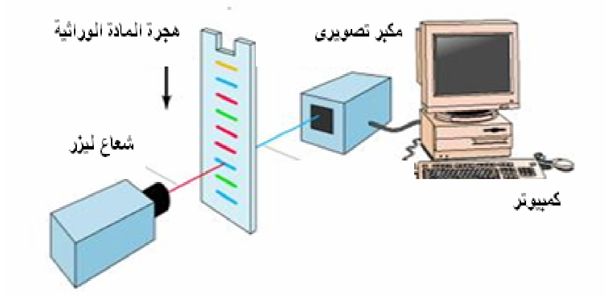
٢- يضاف كمية من كل الأنابيب الأربعة في فتحات خاصة **wells** على لوح چل الأجروز ثم يمرر تيار كهربائي ومن ثم تظهر على طول اللوح القطع المنسوخة والمتفاوتة الطول وكل فتحة تعطي ترتيب القطع٠

٣- يعرض الچل للأشعة **Autoradiography** لكي يتسنى رؤية **DNA** ولكن بصورة مشعة٠

٤- يتم القراءة على لوح چل الأجروز من أسفل إلى أعلى، وكلما تمر الأشعة على نسخة من **DNA** يتم التعرف عليها وكذلك ترتيبها ونوع الديديوكسي نيوكليتيد الموجود في طرفها إلى أن ينتهي لوح الأجروز ٠

ولتسهيل عملية القراءة يستخدم الكمبيوتر فى القراءة بشكل آلي وذلك بتعريض لوح چل الأجروز لأشعة اليزر وعن طريق وحدة إستشعار ومكبر للنبضات **photomultiplier** يستطيع الكمبيوتر أن يحدد نوع الدي ديوكسي نيوكليتيد وترتيبها وطبعها ورسمها بيانيا٠ وبذا يتلون كل حمض نووي بلون مختلف٠ ولا تستخدم المواد المشعة في القراءة الآلية بالكمبيوتر بل يستعاض عنها بمادة مضيئة فلوروسنت **fluorescent** توضع على البريمر على أن يكون لكل دي ديوكسي نيوكليتيد لون مختلف عن الآخر (أي أربعة ألوان من المادة المضيئة) وبذلك يمكن أن تمر جميع القطع في ممر واحد (شكل ٣٦)٠ونظراً إلى أن جهاز الكمبيوتر قابل للخطأ فإنه يلزم التدقيق والمراجعة لتفادي حدوث الأخطاء٠ ولقد جهزت أجهزة كمبيوتر عملاقة تعمل على مدار الساعة وتحت مظلة مشروع الجينوم البشري بالكشف والتعرف الكامل (٩٩% تقريباً) من التسلسل النووي لجميع **DNA** الموجود في الإنسان وقد

سبق ذلك الكشف عن التسلسل النووي لكثير من الكائنات الحية والعمل جاري لمعرفة المزيد.



شكل ٣٦: إستخدام الكمبيوتر فى القراءة بشكل آلي

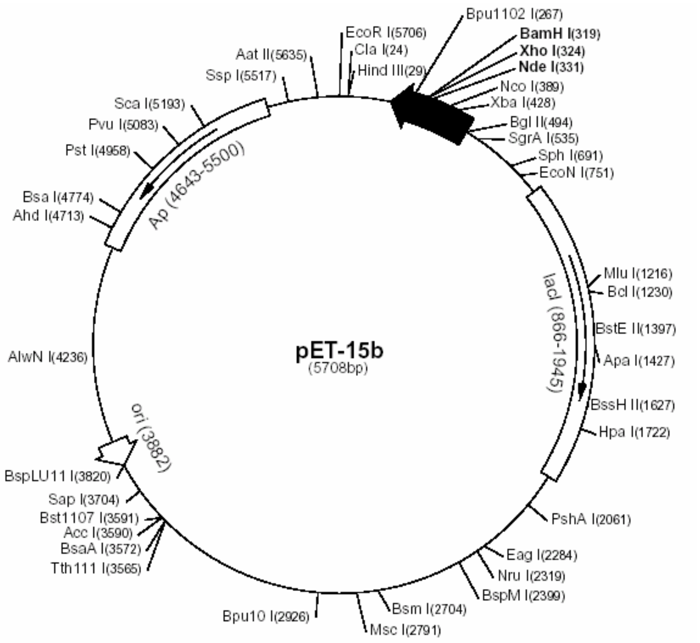
الناقلات Vectors

الناقلات هي في الغالب فيروسات أو قطع من الحمض النووي موجودة في البكتيريا. كما أن هناك أنواع صناعية أو شبه صناعية تم تكوينها في المعامل الطبية لأنها في الأصل مصنعة من مواد موجودة في الطبيعة.

- **البلازميدات Plasmids**

وهي من أشهر الناقلات، وهو عبارة عن قطعة صغيرة من الحمض النووي قابلة للتكاثر بمعزل عن بقية الحمض النووي الموجود في الكروموسومات. وهي شبيهة بالفيروس الصغير ولكنها لا تحتوي على طبقة خارجية من البروتين. ومرة أخرى، البلازميد عبارة عن قطعة من الحمض النووي موجود في البكتيريا خاصة في ***E. coli*** وبعض أنوع الخميرة **Yeast**

(شـكل ٣٧)٠ وللبلازميـد القـدرة علـى التكـاثر الـذاتي وبمعـزل عـن بقيـة الكروموسومات الموجودة في الخلية٠ كما أن هناك بلازميدات تستطيع التكـاثر داخل البكتيريـا والخميرة فـي آن واحد٠ ويوجد نوعـان مـن البلازميدات علـى حسب نوع الحمض النووي فيها، فهنـاك البلازميد المصنوع من **DNA** ونـوع الآخر المصنوع من **RNA**٠ وهناك أنـواع عديدة من البلازميد فمنهـا الـصغير ومنها الكبير كمـا أن منهـا مـا لا يحتـوي علـى أي جين بينمـا هنـاك أنـواع كبيـرة تحتوي على عدة جينات٠



شكل ٣٧: شكل من أشكال البلازميد

وبالإضـافة إلـى وحـدة التكـاثر الـذاتي الموجـودة علـى البلازميـد هنـاك الكثير من الجينات التي قد تكون علـى البلازميد وهـي مفيدة للعلمـاء فـي عمليـة نسخ الجينات والقطع النوويـة فمثلا فد يوجد علـى البلازميد جين خـاص يكـافح

المضادات الحيوية كالأمبيسيلين والتتراسيكلين. وهذه الجينات الواقية من المضادات الحيوية تساعد في التعرف وعزل البكتيريا التي تحتوي على البلازميد الذي عليه الجين الذي يمكن إستنساخه. ويعتقد نظرياً أن الفيروسات المنتشرة في الأصل كانت بلازميدات حيث أنها إكتسبت غلاف بروتيني خارجي وأصبحت فيروساً.

● الناقلات الفيروسية **Viral Vectors**

إن أشهر هذه الأنواع هي الفيروسات المعروفة بالفاج **Phage**. وهي عبارة عن قطعة من **DNA** مغلفة بغلاف بروتيني. ومن أشهر أنواع الفاج ما يسمى بفاج لمبدا **lambda phage** وهو فيروس موجود في ***E. coli***. وهذا النوع من الناقلات تستطيع أن تحمل قطعة من **DNA** حتى كيلو من القواعد **Kilo base**. ولكن قد حوّرت هذه الفيروسات لكي تستطيع حمل كمية أكبر من **DNA**. فعلى سبيل المثال الكوزميد **Cosmids** عبارة عن تهجين قطعة من الحامض النووى **DNA** تسمى التسلسل اللاصق **cohesive sequence** وتعرف إختصاراً **Cos sequence** من فاج ليمبدا **Phage** مع بلازميد **Plasmid** والذي يستطيع نقل حتى ٤٠ كيلو من القواعد **40 Kilo base** أو (**40 kb**) و الباك الفيروسي المسمى بكروموسوم البكتيريا الصناعي (**PAC** **P1-Derived Artificial Chromosomes**) أو الكروموسومات الصناعية وهى عبارة عن تحوير الفاج البكتيرى **Bacteriophage** وإضافته إلى البلازميد.

• الناقلات الكروموسومية الصناعية

Artificial Chromosomes

ونظرا للحاجة إلى نقل إحجام كبيرة من **DNA** فقد قام بعض العلماء بتحوير بعض الناقلات الطبيعية لكي تقوم بهذه المهمة٠ ويوجد حاليًا ناقلات على شكل كروموسوم وفيها القطع الأساسية لكي تعمل على شكل كروموسوم٠ ومن هذه الأنواع ما يعرف بإسم الياك أو كروموسوم الخميرة الصناعي **Yeast Artificial Chromosomes (YAC)** والذي يستطيع نقل أكثر من ٥٠٠ كيلو من القواعد (**500 kb**)٠ والياك عبارة عن قطعة من **DNA** مترابطة وتحتوي على طرفين للكروموسوم (**2 Telomeres**) ومركز للكروموسوم **Centromere** ومركز للتكاثر (**Autonomous replicating sequence (ARS** ٠ بينما الباك البكتيري **Bacterial Artificial Chromosomes (BAC)** والذي يستطيع حمل حتى ١٥٠ كيلو من القواعد (**150 kb**) وهو تحوير للبلازميد المعروف ببلازميد تناسل بكتيريا **E coli plasmid-factor fertility** ٠

• النسخ والإستنساخ Cloning

تشتهر كلمة الإستنساخ بين الناس لإرتباطها بخلق الكائنات أو إنشاء نُسخ منها٠ ولكن بالمصطلح الطبي فإن كلمة نسخ أو إستنساخ تعني عملية إنشاء صورة طبقا الأصل من المادة التي يراد نسخها٠ وقد يكون النسخ لقطعة من **DNA** أو نسخ كائن حي متكامل٠ ولا شك أن لغتنا العربية تفرق بين كلمة نسخ وإستنساخ ولكننا سوف نستخدم كلمة نسخ أو إستنساخ في حديثنا لنشير لنفس المضمون٠ وتعني كلمة إستنساخ باللغة العربية ماينتج عنه نسخة أو مستنسخ **Clone** ٠ وعندما قام أحد العلماء وفريقه العلمي بنشر خبر إستنساخ

النعجة "دولي" في أحد مختبرات إسكتلندا (مختبر روزيلين) عام ١٩٩٧ زاد إهتمام العالم بموضوع الإستنساخ وزاد الفضول العلمي في الحديث عن إستنساخ الإنسان٠

وفجر ذلك الخبر الكثير من التحفظات الدولية من كثير من المراكز الدينية والعلمية لها قد يقع على الجانب الأخلاقي من عملية إستنساخ الإنسان٠ وبعد ذلك أصبحت كلمة إستنساخ شائعة بين العامة عند الحديث عن عملية خلق نسخة أخرى من الحيوان أو الإنسان وبذلك ظهر اللبس بين الكثيرين في معنى هذه الكلمة٠ ولا شك فإن العلماء كانوا ومازالوا يستعملون هذه الكلمة في الإشارة إلى عملية صنع نسخة من أي مادة وراثية وليس بالضرورة خلق أو نسخ كائن حي بالكامل٠

ولذلك قسم العلماء الإستنساخ أو النسخ إلى ثلاثة أنواع :

١. نسخ أو إستنساخ القطع من **DNA** عن طريق الهندسة الوراثية وبما يعرف بتكنولوجيا إعادة توليف المادة الوراثية **Recombinant DNA technology**٠
٢. الإستنساخ التكاثري أو الجنسي **Reproductive cloning**٠
٣. الإستنساخ العلاجي **Therapeutic cloning** ٠

١- نسخ أو إستنساخ القطع من DNA عن طريق الهندسة الوراثية Recombinant DNA Technology

إن ما يهتم به العلماء في باب الإستنساخ هو نسخ قطع من **DNA** سواء أكانت هذه القطع عبارة عن جين (مورث) أو جميع الجينوم (كل **DNA** الموجود في الكائن الحي)٠ وأشهر العمليات التي تجرى هي نسخ قطعة من

DNA٠ ويحتاج العلماء للقيام بنسخ القطع لأنهم يحتاجون إلى كمية كبيرة من هذه النسخ وذلك لندرة إستخلاصها في كل مرة من داخل الخلية وذلك لوجود التعقيدات الإنشائية للكروموسومات٠ وعلى سبيل المثال، فإن الجين المنتج لسلسلة بيتا في الهيموجلوبين والمعروف بمورث بيتا جلوبين (**Beta-Globin Gene**) يمثل فقط ٠,٠٠٠٠٥% من حجم **DNA** الكلي في الخلية (يتراوح حول ٣بلايين قاعدة نيوكليوتيدية)٠ كما أن الجين العملاق والمعروف بجين الدستروفين **Dystrophin gene** والذي قد يصل حجمه ٢٥ ميجا قواعد (**25 Megabases**) لا يمثل أكثر من ٠,٠٠٨% من الحجم الكلي **DNA** في الخلية٠ ولذلك فإن العلماء يحتاجون إلى إجراء نسخ لهذه الجينات أو القطعة من **DNA** لكي يتسنى لهم التعامل بها وإجراء التجارب عليها٠

وهناك طريقتان رئيسيتان للنسخ:

- النسخ عن طريق إستخدام الخلايا الحية **Cell-based DNA cloning**٠
- النسخ بطريقة الخلايا غير الحية **Cell-free DNA cloning** وذلك بإستخدام تقنية (**Polymerase chain reaction (PCR** والذى سبق التحدث عنه٠

- نسخ أو إكثار المادة الوراثية إعتماداً على الخلايا **Cell-based DNA cloning**٠

ويرتكز النسخ بإستخدام الخلايا الحية على ثلاث خطوات:

١- بناء جزيئات من **DNA** المعاد توليفها بالإلتصاق بناقل **Vector** لديه القدرة على التكاثر، وذلك عن طريق إستخدام الإنزيمات القاطعة٠

1- Construction of recombinant DNA molecules by in vitro attachment to replicon (Vector)

٢- النقل بإستخدام البكتيريا أو الخميرة

2- Transformation using bacteria or yeast

٣- إختيار المستعمرات البكتيرية التي تحتوي على الناقل والقطعة المعاد توليفها والسماح لها بالتكاثرفى أطباق الزراعة أو في محاليل سائلة٠

3- Selective propagation of cell clones in culture Plates

٤- عزل سلالات **DNA** المعاد توليفها

4- Isolation of recombinant DNA clones

وسوف نتناول الخطوات السابقة بشئ من التفصيل:

١- بناء جزيئات من **DNA** المعاد توليفها

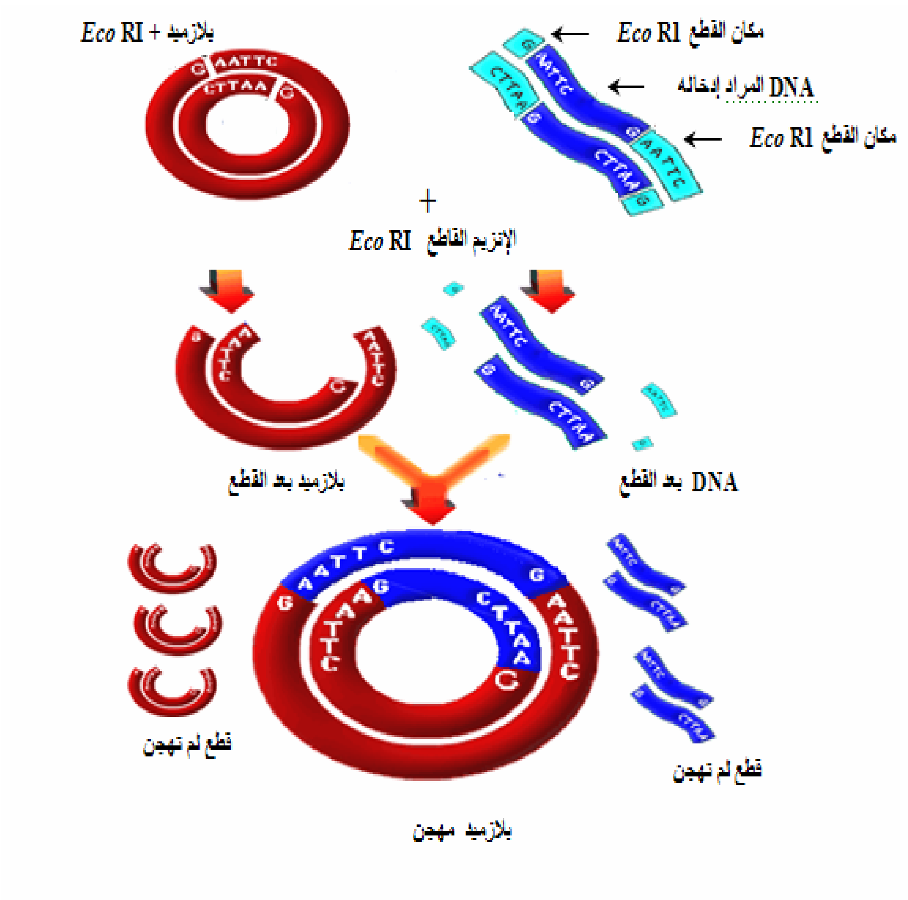
Construction of recombinant DNA molecules

يعتمد النسخ بإستخدام الخلايا الحية على قدرة قطعة **DNA** المراد نسخها على التكاثر الذاتي عندما توضع داخل الخلية الحية٠ ولا شك أن قطع **DNA** العادية ليس لديها القدرة على التكاثر الذاتي ولذلك فإن العلماء تغلبوا على هذا الأمر بأن أدخلوا القطعة المراد نسخها في ناقل من النواقل **Vectors** المعروفة بقدرتها على التكاثر الذاتي٠ وبغض النظر عن نوع الناقل فإن طريقة إدخال قطعة **DNA** المراد نسخها إلى الناقل تقريبا واحدة٠ وتلك هى الخطوات التى تتم وببساطة كما يلي:

١- بعد أن يتم تحديد القطعة المراد نسخها يضاف إليها إنزيم قاطع محدد وليكن مثلا إنزيم (أ) فيقوم هذا الإنزيم بقطع **DNA** في مكان محدد حسب التسلسل النيوكليوتيدى٠

٢- يضاف نفس الإنزيم للناقل والذي يقوم بقطعه أيضاً في نفس التسلسل النيوكليوتيدى٠

٣- تضاف القطع المراد نسخها بعد قطعها بالإنزيم القاطع إلى الناقل الذى قطع أيضاً٠ فتتداخل التسلسلات النيوكليوتيدية بين الناقل وبين قطع **DNA** المراد نسخها، فتنشأ من ذلك قطعة مهجنة من الناقل وبداخله القطعة المراد نسخها (شكل ٣٨)٠ وترتبط قطعة **DNA** بالبلازميد من أطرافها برابطة هيدروجينية وهي رابطة ضعيفة لذلك يضاف إنزيم يسمى ليجييز أو اللاصق **Ligase** لكي يجعل الترابط بين قطعة **DNA** والناقل إلى رابطة تساهمية قوية **Covalent bond**٠



شكل ٣٨: تصميم القطع المهجنة من DNA فى كلاً من البلازميد و الحامض النووى DNA

ومما لا شك فيه إن أكثر الناقلات إستخداما هي البلازميدات ولكن يمكن إستخدام الفاج أيضاً، والياك أو أي ناقل أخر٠ فى العادة يكون العامل المحدد لنوع الناقل المراد إستخدامه هو كبر القطعة المراد إستنساخها٠ ففي حالة القطع الصغيرة يستخدم البلازميد أو الفاج بينما يستخدم الياك أو الباك في حالة القطع الكبيرة٠

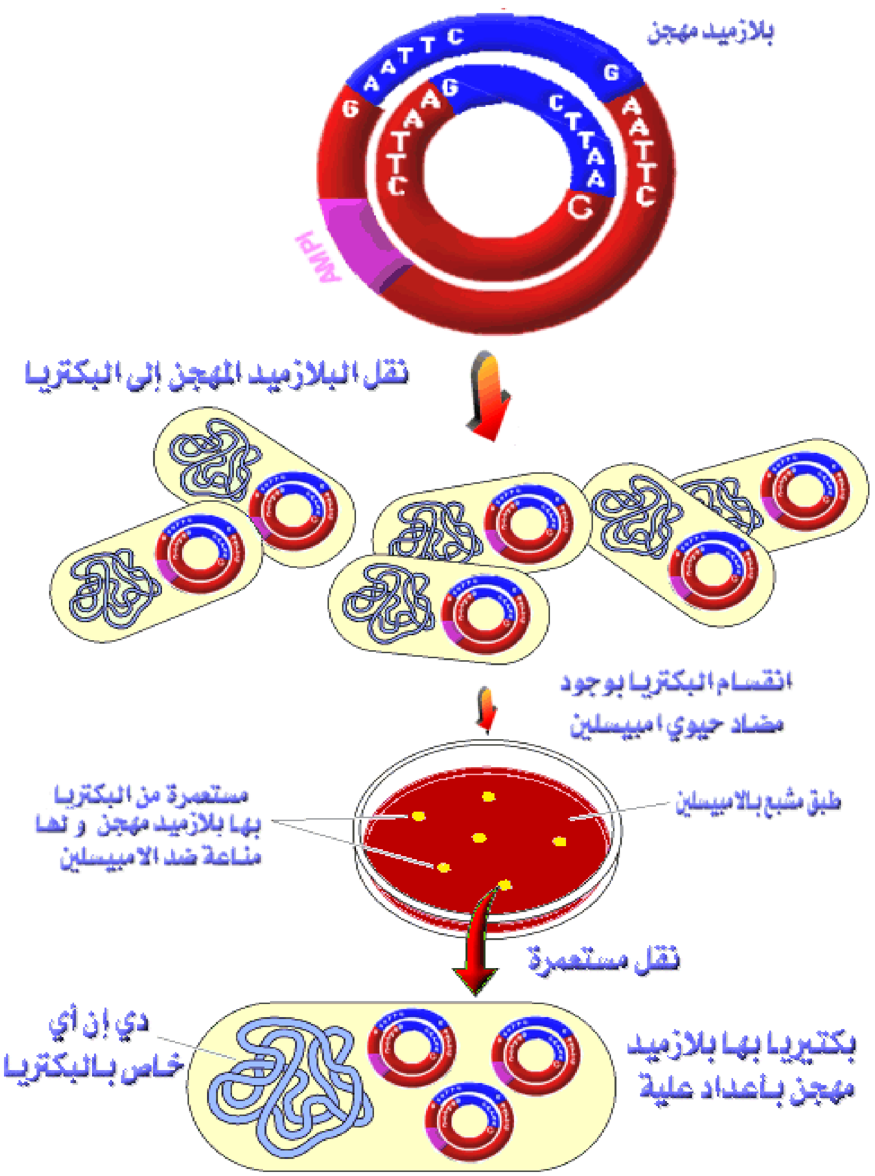
٢- نقل القطعة المهجنة والموجودة بداخل الناقل إلى خلية حية

في الغالب تستعمل بكتيريا خاصة وهى ***E. coli*** في عملية الكلونة وذلك لسهولة إدخال الناقل إليها، وإلى سرعة إنقسامها (تنقسم البكتيريا تقريبا كل ٢٠ دقيقة) ، إضافة إلى توفر طرق الإختيار خاصة التي تعتمد على خاصة الحماية من المضادات الحيوية٠ ويدخل البلازميد أو الفاج تلقائياً إلى داخل البكتيريا بينما تحتاج النواقل الأخرى إلى مساعدة، ذلك بتغيير تركيز الأملاح المحيطة بالبكتيريا أو بالتعرض إلى نبضة كهربائية لكي يسمح الجدار المحيط بالبكتيريا بدخول النواقل٠ ومن طبيعة البكتيريا إنها تنقسم تلقائيا وبشكل سريع وكذلك البلازميدات (شكل ٣٩)٠

٣- عزل سلالات المادة الوراثية والسماح لها بالتكاثر فى أطباق الزراعة

بإختيار المستعمرات البكتيرية التي تحتوي على الناقل والقطعة المهجنة مع تكاثر الخلايا البكتيرية وتكاثر البلازميد التي بداخلها ينتج لدينا أعداد كثيرة من المستعمرات البكتيرية وبها البلازميد المهجن٠ ولكن قد يكون في داخل الطبق الذي زرع فيه البكتيريا بعض البكتيريا التي لا تحتوي على البلازميد المهجن وللتعرف على البكتيريا التي تحتوي على البلازميد المهجن

فإنه عادة ما يتم بإستعمال ناقلات عليها جينات واقية من المضادات الحيوية، كالجين الواقي من المضاد الحيوي أمبيسيلين أو التترسيكلين وغيرها٠ وبذلك فالمضاد الحيوي سوف يمنع تكاثر أي خلية بكتيرية لا تحتوي على البلازميد



شكل ٣٩: نقل القطعة المهجنة والتي هي بداخل الناقل إلى خلية

المهجن٠

٤- عزل المادة الوراثية المستنسخة

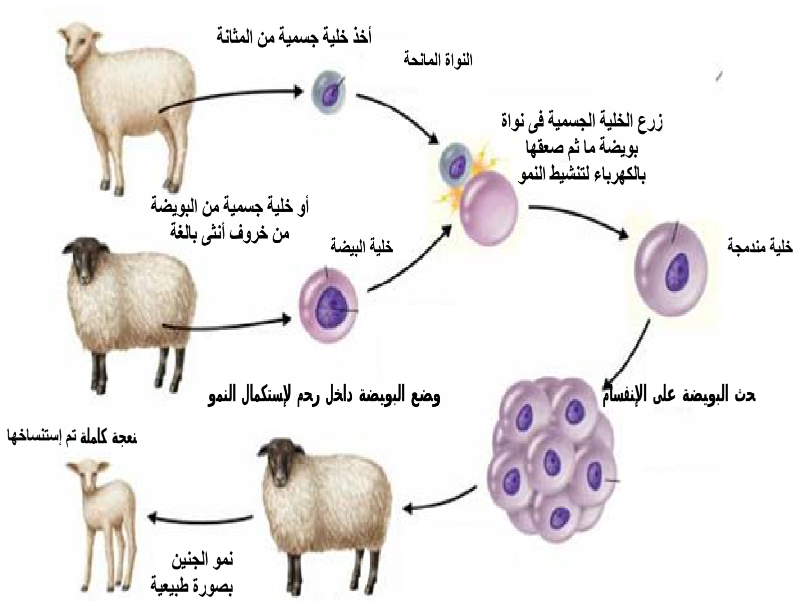
DNA Cloned Fragment Isolation

بعد أن يتم التعرف على المستعمرات التي تحتوي على البلازميد المهجن فإنه يمكن نقلها إلى طبق جديد ويحافظ عليها وتغذى لكي تستمر فى التكاثر٠ يكون لهذه البكتيريا أعداد كثيرة من البلازميد وبذلك تنتهي عملية النسخ٠ ويستفاد من هذه القطع المنسوخة في القيام بالمزيد من البحوث أو التجارب عليها كأن يقام مثلا إنتاج مكتبة من **DNA** أو محاولة إستنتاج التسلسل النووي النيوكليوتيدى للقطعة٠ كما يمكن تحوير هذه العملية بحيث يحتوي البلازميد على قطعة من **cDNA** ومن ثم تحوير المراحل الأخيرة من الكلونة لإنتاج بروتين بدلا من **DNA**٠ وهذه الطريقة هي التي تستعمل في إنتاج بعض الهرمونات كهرمون النمو٠

الإستنساخ التكاثري Reproductive Cloning

يعرف الإستنساخ التكاثري أو الجنسي بأنه إنتاج كائن حي بنفس مواصفات المادة الوراثية النووية **Nuclear DNA** لكائن حي أخر (المنسوخ منه)٠ لقد قام الفريق العلمي بمختبر روزلين عام ١٩٩٧ بعملية إستنساخ جنسي للنعجة دولي٠ وتعرف هذه العملية أيضاً بنقل نواة الخلية الجسمية **Somatic Cell Nuclear Transfer (SCNT)** وبشكل مبسط نقل نواة من خلية من خلايا الجسم غير الجنسية أي غير الموجودة بالمبيض (في الأنثى) ومن خلايا الخصية (في الذكر)٠ والخلية التي إستعملت لإستنساخ دوللي كان من خلايا الثدي لنعجة أخرى (شكل ٤٠)٠

ومن ثم أخذت أيضاً بويضة من المبيض وقام العلماء من التخلص من النواة التي بداخل تلك البويضة ثم قاموا بزرع النواة التي أخذوها من الثدي في داخل البويضة. ثم قاموا بصعق تلك البويضة بالكهرباء لتنشط عملية الإنقسام. وبعد أن بدأت هذه البويضة في الإنقسام قاموا بزرعها داخل رحم نعجة وبعدها نمى الجنين في الرحم ليكون نعجة كاملة. وعلميًا فإن دوللي أو أي حيوان أو إنسان يستنسخ بهذه الطريقة ليس في الحقيقة نسخة مطابقة للام أو الأب الذي أخذ منه النواة حيث أن هناك بعضاً من المادة الوراثية موجوداً خارج النواة وهو بالتحديد موجود في داخل البويضة التي أزيل منها النواة، وهذه المادة الوراثية موجودة على جسيمات صغيرة تسمى بالميتوكوندريا **Mitochondria**. ومع أن الميتوكوندريا مصنع هام للطاقة إلا أنه يكثر فيها الطفرات مع تقدم العمر وقد يكون لها علاقة بالتقدم فى السن.



شكل ٤٠ : إستنساخ النعجة دوللى بالكامل

الإستنساخ العلاجي Therapeutic Cloning

ويقصد بذلك إستنساخ كائنات حية لأخذ خلايا جذعية **stem cells** ولا يسمح لها للوصول إلى تخليق كائن حي كامل. تنبع أهمية هذه الخلايا قدرتها على إنتاج أي خلايا أو أعضاء كالكلية والكبد والخلايا الدموية والتي يرجى من إستخدامها علاج الكثير من الأمراض التي لا يوجد لها علاج ناجح حتى الآن. ولقد قامت إحدى الشركات العلمية في ولاية ماسيشيوستز بالولايات المتحدة الأمريكية **Advanced Cell Technologies** في شهر نوفمبر من عام ٢٠٠١ بالإعلان عن محاولة ناجحة لإستخلاص خلايا جذعية من أجنة مستنسخة وذلك بعد أن قامت بإستخدام ثمان بويضات بشرية تم تفريغها من نويتها ثم زرع بداخلها أنوية خلايا من الجلد. ولقد نجحوا في إنتاج خلايا جذعية من بويضة واحدة بينما فشلت البويضات السبع الأخرى.

الباب الرابع

دور التقنية الحيوية فى دعم التنمية الريفية

(الإيجابيات والسلبيات)

تعتبـر الأسـاليب الزراعيـة المتبعـة حاليـاً ناجحـة إلـى حـد كبيـر، فالمزارعون ينتجون المحصول الكافي لإطعام الستة بلايين نسمة الذين يعيشون على كوكبنا هذا والمدهش أنه برغم العديد من الدواعي السياسية الإضطرارية، فالغذاء عادة لا يصل إلى معظم بنى البشر٠ أما الدول الغنية فبإمكانها الحصول على الغذاء الوفير والمتنوع والأكثر آمناً من أي وقت مضى٠ وإذا تحدثنا عن العشرة بلايين نسمة المتوقع التنبؤ بها علماء الإحصاء بحلول عام ٢٠٥٠ فليس من الواضح أنه بمقدور المزارعين توفيرالغذاء لها فهم بالكاد ينتجون الآن الغذاء للسكان الحاليين، فما بال الحال بالنسبة للعشرة بلايين نسمة٠ وللتغلب على هذه الأزمة ومواجهه التغيرات المناخية الموسمية وتضاءل مواردنا فهناك حاجة إلى إعادة التفكير بصوره جذرية فى إيجاد حلول لتلك المشاكل المتوقعة٠ فهناك الكثير من عدم الرضى بشأن الأساليب الصناعية الإنتاجية الزراعية وطرق معالجة الأغذية المنتشرة في الدولة المتقدمة٠ فالناس تشعر بالقلق حيال صحة المواشي نتيجة الإستخدام المتزايد للكيماويات والهرمونات والنتائج المترتبة عن الصحة والبيئة جراء التعامل مع المحاصيل المعدلة جينياً **(Genetically Modified Corps (GMC**٠ يؤيد الكثيرون الزراعة العضوية في المزارع لأنها خالية من أية كيماويات ولكنها ذات إنتاج منخفض نسبياً كما أن الأغلبية تتجنب إستخدام الأطعمة المعدلة جينياً٠

إذن فللزراعة دوراً هام في إقتصاديات معظم البلدان النامية، بما في ذلك بلدان الشرق الأوسط، حيث يعتمدون بشكل مباشر على الزراعة بقطاعاتها المختلفة، بما في ذلك الصيد، والرعي وتربية الحيوانات الزراعية٠ وتختلف مستويات نصيب الفرد من الدخل اختلافاً كبيراً بين بلدان العالم، الذي توجد به بلدان غنية بالنفط وبلدان منخفضة الدخل تعاني من الفقر المدقع في الحضر والريف٠ ومع ذلك، فعلى الرغم من المعوقات التي تمثلها الظروف المناخية

الجافة وشبه الجافة، إرتفاع الإنتاج الزراعي في السنوات الأخيرة، مازال العالم يواجه عجزاً في الأغذية، وتلجأ معظم البلدان تقريباً إلى الإستيراد لتلبية الإحتياجات الغذائية للسكان الذين يتزايد عددهم بسرعة٠ وتشير البيانات العالمية الخاصة بالموارد المائية إلى أن الشرق الأوسط سوف يواجه أشد أنواع المخاطر جراء نقص المياه في المستقبل القريب٠ وفي إطار هذه الخلفية، توجد ضغوط من أجل زيادة الإنتاج الزراعي والإستفادة من السبل التي يتيحها تحرير التجارة في تعزيز صادرات العالم من المنتجات الغذائية والبستانية٠

ولما كانت القدرة على إستمرار إنتاج الأغذية بطريقة مستدامة أمر غير مؤكد في كثير من المناطق النامية في العالم، أصبح دور العلم والتقنية في زيادة الإنتاجية الزراعية والحيلولة دون تدهور البيئة معترفاً به على نطاق واسع٠ ففي سنة ٢٠٠٤، لاحظ المجلس الاقتصادي والاجتماعي للأمم المتحدة أن معظم البلدان النامية ليس من المرجح أن تحقق أهداف التنمية للألفية بدون التزام سياسي واضح بجعل العلم والتقنية من بين الأولويات على قمة جداول أعمال التنمية فيها٠

ويمكن أن تساهم العديد من التحسينات في التقنية في زيادة الإنتاجية الزراعية٠ ومن بين هذه التحسينات إستخدام عناصر محسنة في تغذية النباتات، وتقنيات صيانة التربة والمياه، والبذور الجيدة وأصناف المحاصيل عالية الغلة، وتحسين التقنيات التقليدية لتكثيف الإنتاج الزراعي، وإستخدام أدوات تشخيص الأمراض البيطرية واللقاحات، وتطبيق التقنية الحيوية في تربية النبات والحيوان٠

الفرص المتاحة أمام نشر المحاصيل المحورة وراثياً

يتيح إدخال المحاصيل المحورة وراثياً فرصاً جديدة لزيادة إنتاجية المحاصيل والتعامل مع المشكلات المعقدة المرتبطة بمكافحة الآفات والأمراض، وأشكال الإجهاد الأحيائي (البيولوجى)، وجوانب القصور المرتبطة بتغذية المحاصيل الغذائية الأساسية٠ وبالفعل يوجد العديد من المحاصيل المحورة وراثياً والتي تتمتع بصفات معينة، على مستوى تجاري٠ وتتضمن عمليات البحوث والتطوير في مؤسسات القطاعين العام والخاص في أنحاء العالم الكثير من المحاصيل الأخرى وربما يكون من الممكن في المستقبل أيضاً إستخدام النباتات والحيوانات كمعامل لإنتاج منتجات جديدة مثل لقاحات ومواد صيدلانية مفيدة في علاج السرطان، وأمراض القلب والأوعية الدموية، والأمراض المُعدية، وغير ذلك من الحالات٠ وعلى المستوى التجاري، يعد أشهر المحاصيل المحورة وراثياً إنتشاراً في الزراعة هما فول الصويا والقطن اللذان يتحملان إستخدام مبيد الحشائش راوند أب ريدى (**Roundup Ready**)، والذُرَة، والقطن واللفت المقاومة للحشرات بفضل إستخدام بكتيريا (**Bt**) ***Bacillus thuringiensis*** القاتلة للحشرات والمستخدمة في المكافحة البيولوجية٠ وفي عام ٢٠٠٤، دلت التقديرات على أن ٨١ مليون هكتار كانت قد زُرعت بالمحاصيل المحورة وراثياً التي تم إعتمادها في نحو ١٦ بلداً وكانت نسبة ٥٩ % منها في الولايات المتحدة، وكذلك في الأرجنتين (٢٠ %)، وكندا (٦ %)، والبرازيل (٦ %)، والصين (٥ %)٠ والهدف من نشر زراعة المحاصيل المحورة وراثياً على مستوى تجاري هو- في معظم الحالات - التقليل من تكاليف الإنتاج في المناطق الزراعية التي توجد بها بالفعل مستويات مرتفعة من الإنتاجية٠ وبإستثناء الصين، ولذا فقد قامت شركات متعددة الجنسيات تابعة للقطاع الخاص بتطوير هذه المحاصيل وأطلقتها في

البلدان المعنية بناء على اتفاقيات ترخيص بزراعتها٠ وقد تحدث المزارعون من البلدان المتقدمة والنامية التي زُرِعت بها هذه المحاصيل عن زيادات في دخلها وعن تحقيق انخفاض في مستوى كثافة إستخدام المبيدات وتعد الولايات المتحدة، والأرجنتين، وكندا من أهم البلدان المصدرة للمحاصيل المحورة وراثياً ومنتجاتها، وخصوصاً القطن المقاوم للحشرات وفول الصويا المتحمل لمبيد الحشائش راوند أب ريدى **Roundup Ready**٠ وقد أظهر إستطلاع للرأي أجري حديثاً في أوربا أن ٤٢ % من المستطلع آرئهم لا يعتقدون بأن تناول الأطعمة المعدلة جينياً ستغير من جينتهم الوراثية الأصلية٠ غير أنه توجد مناطق بالفعل يحيطها الكثير من القلق بشأن الهندسة الوراثية **Genetic Engineering** مثل إدخال التعديل على جهاز الحساسية أو الجينات المقاومة للجراثيم في المحاصيل المعدلة جينياً أو تزيد المقاومة للحشائش الضارة للمبيدات الحشرية بشكل غير متعمد٠

وتتضح هيمنة القطاع الخاص على بحوث التقنية الحيوية عند مقارنة الإنفاق العام والخاص على البحوث٠ إذ تنفق أكبر عشر شركات من الشركات متعددة الجنسيات العاملة في مجال العلوم البيولوجية نحو ٣ بلايين دولار أمريكي سنوياً على بحوث وتطوير التقنية الحيوية الزراعية، بينما يبلغ مجموع ميزانية الجماعة الاستشارية للبحوث الزراعية الدولية لتحسين المحاصيل عُشْر هذا المبلغ، وتخصص الجماعة عُشْر هذا المبلغ الأخير فقط للتقانة الحيوية٠ وفيما بين البلدان النامية، يبلغ مجموع ميزانيات أكبر ثلاثة برامج قطرية للبحوث الزراعية (البرازيل، والصين والهند) أقل من ٥٠٠ مليون دولار لكل منها، ويتراوح نصيب بحوث التقنية الحيوية من هذا المبلغ بين ١٠ % فقط٠

وضع المحاصيل المحورة وراثياً في الشرق الأوسط

Genetically Modified Crops in Middle East

دور التقانة الحيوية في تنمية وتحسين المحاصيل الزراعية

إنتشرت في الأوانه الأخيرة عشرات الأصناف من الأغذية المعدلة وراثياً التي تقوم على تقنيات علمية تعتمد على عملية التهجين الوراثي للوصول الى خصائص معينة، وعلى الرغم من النتائج الأيجابية التي حققتها هذه الأغذية إلا أن ثمة سلبيات غذائية قد أثبتها العلم الحديث فهناك العديد من النقاط والتساؤلات حول هذه الأغذية. فمنذ سنوات عديدة تم تطوير عدة أنواع من الأغذية بإستخدام أدوات علم التقنية الحيوية، وقد اجتاحت هذه الأغذية الاسواق العالمية فنجد من أواخر القرن التاسع عشر عندما إكتشف مندل أنه يمكن بواسطة التهجين التقليدي أن تنقل الصفات الوراثية لنبات البسلة بنسب مختلفة فى الأجيال التالية. وظل العلماء يحسنون من أنواع النباتات بتغير التركيبة الجينية لها وقد تمت هذه عن طريق التهجين. وقد تم حتى الآن تعديل عشرات من الكائنات الحية (نباتية أو حيوانية) أشهرها فول الصويا، الأرز، الذرة، دوار الشمس، الترمس، البطاطس، الطماطم، القرع، قصب السكر، واللفت وكذلك من الاشجار التفاح الجوز والحمضيات وكذلك على الحيوانات منها الأرانب والاسماك والطيور والابقار.

فتعديل هذا العدد الهائل من الأنواع يتم بهدف تحقيق كمية أكبر من الإنتاج وإدخال بعض الصفات الهامة لبعض المنتجات كى تفى بما يحتاجه المستهلك من عناصر التغذية فمثلا تم تعديل الارز ليحتوي على فيتامين أ، وهذا قد يساعد في وقاية مليوني طفل من العالم الثالث يعانون من نقص هذا الفيتامين ونظراً لأنه رخيص فيمكن للفقراء أن يتناولوه وكذلك الحليب لابد ان يحتوي على فيتامين د، والذى يعاني من نقصه سكان بعض الدول الذين لا

يتعرضون لأشعة الشمس بما فيه الكفاية، ودرنات البطاطس التى تم تعديلها وراثياً لتحتوي على بروتينات حيوانية تعوض اللحوم، وفي بعض الأنواع من البطاطا المعدله وراثياً يؤدي تناولها الى تكون مناعة ضد فيروس الفورووك المسبب لأمراض تنتقل بواسطة الغذاء والبعض الاخر يعطي مقاومة لبعض الأمراض الفطرية والبكتيرية والجرثومية، وفول الصويا المعدل وراثياً والغني ببعض الأحماض الأمينية٠

وفيما يلى بعض الأمثلة من الواقع الفغلى على النباتات المعدلة وراثياً والمقاومة لبعض الأمراض المستعصية:

١- بعض سلالات من الطماطم والموز مقاومة للسرطان تتصدر إنجازات التكنولوجيا الحيوية

كشف مسح جديد أجرته مؤسسة صناعية أميركية أن الأبحاث توصلت إلى طماطم مقاومة للسرطان وموزا يقي من الأمراض الجنسية يتصدران قائمة الإنجازات الحالية في مجال التكنولوجيا الحيوية للأغذية٠ وذكر مجلس معلومات التكنولوجيا الحيوية إن ثلثي مجموعة بلغ عدد أفرادها ألف أميركي شملهم المسح إختاروا برنامجا للأبحاث يهدف إلى إنتاج طماطم مقاومة للتأكسد ويعتقد أنها تساعد في مقاومة السرطان كإبرز تطور في مجال أغذية التكنولوجيا الحيوية لعام ٢٠٠٢، وهذا النوع من الطماطم لم يطرح بعد بالأسواق لكنه يعد في سلسلة من النباتات المعدلة وراثياً في طور البحث والتطوير٠ وأظهر المسح أنه في مقدمة التطورات الأخرى في مجال التكنولوجيا الحيوية الغذائية نوعا من البطاطس الحلوة مقاوماً لفيروس نباتي مدمر وكذلك موزا وبطاطس يحتويان على مصل مضاد للأمراض الجنسية وجينا يطيل مدة بقاء الغذاء طازجا وإبتكارات تسمح لنباتات بالنمو حتى في أقسى الظروف المناخية المتطرفة٠ وقالت ماري لي شين خبيرة التغذية في

بيان أصدره المجلس إن هذه الإنجازات تمثل تحولا من الموجة الأولى للإبتكارات في مجال تكنولوجيا الزراعة الحيوية التي كانت تهدف إلى السيطرة على الآفات والأعشاب الضارة۰

٢- بعض أنواع من الكتان تقي من سرطان البروستاتا

يعتقد بعض الباحثون الأميركيون أن بذور الكتان تحتوي على بعض العناصر التي تحمي الجسم من سرطان البروستاتا وخلص الباحثون إلى ذلك بعد أن وجدوا أن الفئران التي تم تغذيتها على كمية كبيرة من بذور الكتان قد أصبحت أكثر مقاومة لأخطر أشكال سرطان البروستاتا۰ وتعد بذور الكتان مصدراً غني بأحماض أوميجا ٣ الدهنية وألياف وعناصر أخرى ربما تلعب كلها دورا في الحماية من السرطان وربما أيضاً من أمراض القلب۰ ولقد سجلوا في دورية دراسات المسالك البولية إن نحو ٣% من الفئران لم يصبها سرطان البروستاتا على الإطلاق في حين أصيب الباقي بأورام أصغر يقل إحتمال إنتشارها۰ وقال الباحث الذي قاد الدراسة إن حجم الأورام في المجموعة التي لم تعالج زاد مرتين عن الأورام في المجموعة التي غذيت ببذور الكتان۰ وأشار بحث آخر إلى أن الرجال الذين يتناولون بذور الكتان لديهم مستويات أقل من بروتين معين تنتجه خلايا البروستاتا ويستخدم الآن كإختبار لمعرفة سرطان البروستاتا۰ وكلما زادت مستويات هذا البروتين عند أي رجل زاد إحتمال إصابته بسرطان البروستاتا۰ ويجري الآن فريق البحث دراسة على الرجال المصابين بسرطان البروستاتا۰ وفي الولايات المتحدة - على سبيل المثال- يموت نحو ٣٠ آلف أميركي سنويا من سرطان البروستاتا وهو ثان أكبر أنواع مرض السرطان فتكاً بالرجال بعد سرطان الرئة۰

دور التقانة الحيوية في تنمية الثروة الحيوانية

يؤدي نمو السكان زيادة الدخل والتوسع العمراني إلى زيادة هائلة في الطلب على الأغذية ذات المنشأ الحيواني في البلدان النامية - وهو ما يعرف باسم "ثورة الثروة الحيوانية"٠ وفي الماضي، كانت البلدان النامية تواجه زيادة الطلب على المنتجات الحيوانية بالتوسع في إنتاج الحيوانات المزرعية٠ غير أن نقص مساحة الأراضي الزراعية في البلدان النامية يرغمها على تكثيف إنتاج الحيوانات المزرعية، وتعد الحيوانات وحيدة المعدة، مثل الدواجن من أهم مصادر نمو قطاع الثروة الحيوانية٠

وعلى مدى القرون الماضية، وفرت الإبتكارات البيولوجية والكيميائية والميكانيكية أساسا لتنمية قطاع الثروة الحيوانية عن طريق إحتواء التأثيرات الضارة لأمراض الحيوان، وزيادة الإنتاج، وخفض الإحتياجات إلى العمالة٠ واليوم، تعد التكنولوجيا الحيوية مصدرا جديدا للإبتكارات التي يمكنها إعادة تشكيل الزراعة بصورة عميقة كأي من المجالات السابقة للابتكار التكنولوجي٠ ويخشى أن يؤدي تكثيف الإنتاج الحيواني إلى خفض التنوع الوراثي بصورة غير مباشرة عن طريق استبعاد السلالات البرية والمحلية وما تنطوي عليه من تنوع مع إعتماد المزارعين على السلالات الأوروبية والحيوانات المحورة وراثياً٠ وتعد التقانات الحيوية مثل حفظ اللقاحات والأجنة بالتجميد إلى جانب التلقيح الاصطناعي ونقل الأجنة وكذلك الاستنساخ بمثابة أدوات حقيقية مهمة وقادرة على حفظ التنوع البيولوجي الحيواني٠

ولا يبدو محتملا أن تلعب الحيوانات المحورة وراثياً دورا رئيساً في الإنتاج الحيواني بالبلدان النامية في المستقبل القريب٠ وتتمثل الإمكانية الكبرى في المدى القصير لإستخدام التكنولوجيات الحيوية في قطاع الثروة الحيوانية

بالبلدان النامية في إستخدام مدخلات الهندسة الحيوية التي تشمل سلسلة إنتاج الأغذية بأكملها إبتداء من الأعلاف الحيوانية إلى تجهيز المنتجات. وخلال المدى القصير إلى المدى المتوسط (من خمس إلى عشر سنوات) ستحدث التكنولوجيا الحيوية زيادة نوعية في الأعلاف الحيوانية عن طريق تحسين محتواها الغذائي وزيادة قدرة الحيوان على هضم الأعلاف التي تحتوي على نسبة عالية من ألياف اللجنين وتعزيز مكافحة الأمراض. إلا أن الأوبئة والأمراض الحيوانية تمثل عائق في زيادة القدرة الإنتاجية للحيوان مع تكثيف الإنتاج الحيواني ومع زيادة أعداد الحيوانات في المناطق الأكثر دفئا ورطوبة. ويمكن أن تسهم تكنولوجيا الحمض النووي في تحسين مكافحة أمراض الحيوان عن طريق إنتاج أمصال أكثر فعالية وأقل تكلفة وتوفير أدوات تشخيصية أكثر دقة مما يزيد الإنتاج المحلي ويدعم مشاركة هذه المناطق في تجارة الحيوان العالمية والعالمية. ومن غير الوارد أن تكون الزراعة الحيوانية التقليدية في كثير من البلدان النامية قادرة على الوصول إلى معظم هذه التقانات والتي ستتاح بدرجة أكبر للقطاع التجاري والصناعي الناشئ في مجال تحسين التجهيز الصناعي الزراعي ليصبح أكثر ملائمة للبيئة وأكفأ إستخداماً للطاقة. في البلدان المتطورة تهيمن شركات خاصة على معظم أنشطة البحث والتطوير في مجال التكنولوجيا الحيوية (أكثر من ٨٠ %) وذلك تلبية لإحتياجات السوق وتحقيق أرباح مالية. وهي بذلك قد لا تكون ملائمة جدا لأوضاع صغار المزارعين في العالم ما يؤدي إلى إتساع الهوة في الدخل والثروة داخل البلدان (كبار المزارعين في مواجهة صغار المزارعين) وبين البلدان (المتقدمة في مواجهة النامية). ونظرا لأن الإعتبارات التجارية ربما لا تعبر بالضرورة عن الإحتياجات الإجتماعية، يبقى هناك دور رئيسي لبحوث القطاع العام ومشاركة المنظمات الدولية.

وعلى المستوى التجاري لا تُنتج بلدان الشرق الأوسط محاصيل مُعدَّلة وراثياً ، ولكن عدداً منها يهتم بإجراء بحوث وعمليات تطوير متقدمة على المحاصيل المحورة وراثياً. وربما تأتي مصر وإيران في مقدمة دول الشرق الأوسط التي تنتج المحاصيل المحورة وراثياً على مستوى تجاري. فقد تمكن معهد بحوث الهندسة الوراثية الزراعية في مصر من إستنباط عدداً من المحاصيل المحورة وراثياً المقاومة للحشرات والفيروسات ومنها القطن **Bt**، والبطاطس، والكوسة، والقمح المتحمل للجفاف.

وتجري إيران بحوث التعديل الوراثي **Genetic Modification** على الأرز، والقمح، والكانولا، وبنجر السكر، والكمون، والقطن. وقد استنبط المركز القومي لبحوث الهندسة الوراثية والتقنية الحيوية في إيران صنفاً من الأرز المُعدَّل وراثياً مُقاوماً للحشرات، وأصبح هذا الصنف جاهزاً للزراعة على مستوى تجاري. وتوجد في بلدان أخرى مثل الجزائر، والمغرب، وباكستان، وسورية، وتونس وتركيا مراكز لبحوث البيولوجيا الجزيئية وبرامج متقدمة لاستكمال الطرق التقليدية لتربية النباتات وصيانة الأصول الوراثية. وتسعى كل من مصر، وإيران، والكويت، وتركيا لإقامة برامج مشتركة، والحصول على تمويل من القطاع الخاص ومن الجهات المانحة، لتشجيع بحوث التقنية الحيوية من خلال الشراكة بين القطاعين العام والخاص.

إن إستخدام التقنية الحيوية الحديثة يظل محدودا في الكثير من بلدان العالم، وربما يرجع ذلك إلى ضخامة التكاليف الإستثمارية والأعباء التنظيمية. ولكي تكون بحوث التقنية الحيوية فعالة، فإنها تتطلب كما تتطلب تطبيقاتها توافر حد أدنى من الخبرات، والمعدات، والمرافق، والدعم المؤسسي، بالإضافة إلى التعاون الدولي. كما أن تبني التقنيات المستنبطة في أماكن أخرى يتطلب مرافق وبنية أساسية وقدرات مهنية معينة، مع ضمان تطبيق الإجراءات

التنظيمية المناسبة المتصلة بسلامة المعامل، والأمان الحيوي وحقوق المِلكِية الفكرية طبقاً للقوانين والقواعد الدولية٠

ومن الواجب أن تعمل البلدان منفردة على تقوية قدراتها في مجال السياسات والمجالات التنظيمية، وتحديد المخاطر وتقييم مدى خطورتها وكذلك وضع الإجراءات المناسبة للتحكم في المحاصيل المحورة وراثياً٠ وتقوم بلدان الشرق الأوسط في الوقت الحاضر بإقامة نظم خاصة للأمان الحيوي من أجل تطبيق البروتوكول الخاص بالأمان الحيوي فيما يتعلق بتنظيم، إدارة أو السيطرة على المخاطر المرتبطة بنقل الكائنات المحورة وراثياً والتعامل معها وإستخدامها٠

أما تأثيرها على صحة الإنسان فهى مسألة محل جدل شديد، عرف العالم بمشكلة جنون البقر والآن ربما تظهر مشاكل جنونية غذائية، مثل جنون الفول والذرة والطماطم، وجنون كل ما يدخل في أفواهنا، فهذه المسألة بدأت في أواسط التسعينات من القرن العشرين عندما بدأت الشركات التجارية للمنتجات الزراعية تروج للبذور المعدلة وراثياً لتساعد الفلاح على الإستغناء عن جزء من المبيدات الزراعية السامة٠

ومع نهاية القرن العشرين كانت المحاصيل المعدلة وراثياً تملأ الاسواق وتتسابق بعض الدول لزراعة حبوبها، ولم يتوقف مد إنتاج هذه المحاصيل إلا في السنتين الاخيرتين بعد موجات الإحتجاج الكبيرة من قبل أنصار البيئة التي أدت التى التحفظ من قبل المستهلكين فرفعت الشعارات التي تدعو الى التوقف عن التلاعب بالطبيعة لان المورثات المضادة للجراثيم والآفات الزراعية والحشرات وغيرها يمكن أن تنتقل الى الإنسان عن طريق الغذاء فتعرضه لأمراض كثيرة فالأخطار التي يتخوف منها اعداء المنتجات

المعدلـة وراثيـاً هـي أخطـار مباشـرة علـى صـحة الإنـسان فبعضها يحتـوي علـى نـسب متفاوتـة مـن الـسمية وبخاصـة الأصـناف النباتيـة التـي عـدلت لمقاومـة الأعـشاب والحـشائش وكـذلك الحـشرات وقـد أثبتـت التجـارب إحتـواء بعـض المنتجـات المـشتقة مـن كائنـات معدلـة علـى مـواد سـامة جديـدة والـبعض الاخـر يسبب أنواعـا مـن الحـساسية وهـي مـصطلح عـام يـضم تحتـه أنماطـا مختلفـة مـن الإسـتجابات المناعيـة والحـالات الباثولوجيـة مـن بينهـا الربـو، و بعـض أنـواع الحمـى، والاكزيمـا، وهـذه هـي الأخطـر وذلـك بعكـس المـادة غيـر المعدلـة التـي تنتمي الى نفس النوع مثل الفستق البرازيلـي الـذي حـول الـى فـول صـويا بقـصد تزويـده بالبروتينـات فنـشأت مـواد مثيـرة للحـساسية ظهـر هـذا عنـدما أجريـت إختبارات السيرم والجلد علـى متطـوعين معـروفين بحساسيتهم لفستق البرازيـل وكـذلك ربطـت الإضـافات الغـذاء وبالحـساسية المفرطـة للغـذاء والنـشاط المفـرط لدى الاطفـال فكانـت مـادة التـارترازين لتلـوين الطعـام هـي أولـى الإضـافات إلـى الغـذاء التــي إرتبطــت بمــشاكل الحــساسية ولــن تتراجــع مــشاكل الاســتجابة الاسيرجية للاطعمـة مـع زيـادة تخليـق الاطعمـة بإسـتخدام الهندسـة الوراثيـة أو التعديل الوراثي٠

أما فيما يتعلق بالنباتات التي يتم تزويدها بالمضادات الحيويـة ففـى أثنـاء تعديلها وراثياً لتكون مقاومة للامراض فإن إنتاجها قد يحمل هذه المضادات الـى الجهاز الهضمي للإنسان فيكسبه خصائص مقاومـة للمضادات الحيويـة ولـو أن الإنسان تناول في حياتـه الكثيـر مـن هـذه المـضادات وعنـدما يحتـاج الـى معالجـة مرض ما تصبح المضادات الحيويـة عـاجزة عـن مـساعدته٠ ولكـن لـم يقـل العلـم كلمتـه الحاسـمة عـن أخطـار الكائنـات المعدلـة وراثيـاً وعـن مـدى تأثيرهـا علـى صـحة الإنسان وعلى الكائنات الحية بشكل عام٠ على اية حال، يحتـاج الامـر الـى أكثر مـن ١٠ سنوات لمراقبـة تـأثير هـذه الكائنـات الحيـة الجديـدة علـى الكائنـات

الحية الطبيعية المألوفة على الارض لأن وجود جين في وسط غير وسطه الاصيل يمكنه أن يسبب تفاعلات وتأثيرات قد لاتظهر إلا بعد عقود من الزمان مهما إستطاع علماء التقنية الحيوية أن يتحكموا بسرعة الفعل ولكن لايستطيعون أن يتحملوا ردة الفعل ويتحكموا فيه٠

فالمشكلة هذه ليست بالبساطة التي يتصورها البعض فالأمر يتعلق بمستقبل الكائنات الحية على وجه الارض٠ إذن هل يجب علينا أن نقاطع تكنولوجيا الهندسة الوراثية أم نسلم أنفسنا لاقدارها؟ العالم يشهد إحتجاجات واسعة على تعديل المواد الغذائية وبدأ الناشطون البيئيون مقارعة الأخطار المحدقة فإنقسم العالم الى مؤيد ومدافع ومعاد ومنتقد ومتحفظ٠ ولقد فرض الاتحاد الاوروبي سنة ١٩٩٨م حظرًا على إنتاج وبيع المنتجات المعدلة وراثياً لكنه عاد وسمح بعدد من هذه المنتجات فسمحت من جديد بصناعة التكنولوجيا الحيوية فحظرت دول أخرى استيراد الأغذية المعدلة وراثياً مثل المملكة العربية السعودية فلقد عقدت في الرياض ندوة وصدرت مجموعة من التوصيات مثل ضرورة وضع خطة وطنية لدراسة الجوانب المختلفة لتطبيقات الهندسة الوراثية في بيئة المملكة وكذلك وضع ضوابط لإستيراد هذه الأغذية وإنتاجها إذا لزم الأمر وإنشاء قاعدة معلومات تختص بالأغذية المعدلة وراثياً وكذلك إنشاء بنك للأصول الوراثية النباتية حتى يتسنى جمع المصادر الوراثية للمحاصيل الزراعية ذات الاهمية بالمملكة وحفظها٠

وكل ذلك مع إحترام حق المستهلك في معرفة طبيعة المنتجات الغذائية ومكوناتها ما إذا كانت عناصرها معالجة بالهندسة الوراثية ومازال بعض الدول تدرس الموضوع بتردد واستجابة لذلك بدأت الشركات تضع ملصقات واضحة على الغذاء المعدل وراثياً على ان الملصقات يجب أن توضع على كل غذاء يحتوي على واحد بالمئة او أكثر من الكائنات المعدلة وراثياً وأيضاً

خفضت الشركات إنتاجها من البذور المعدلة وراثياً خوفا من تنامي عداء المستهلكين لها بصورة أكبر ٠ أما الحل لحماية انفسنا من مخاطر هذه الأغذية فلا يمكن ان نعود الى الطبيعة كما كانت قبل إكتشاف هذه الهندسة الوراثية للاغذية ولكن بمقدورنا ان نقف عند أمور أهمها زيادة الوعي التغذوي عبر وسائل الاعلام بصورة مستديمة ومتوازنة ليوضح فيها السلبيات والإيجابيات لتحسين سير الامور وأن نعتمد ما أمكن في طعامنا على الأغذية الطبيعية من فواكه وخضراوات والتقليل من تناول الأغذية الصناعية كعصائر الفواكه الصناعية والأغذية المحفوظة داخل علب أو تلك التى أضيف اليها مواد حافظة وذلك تجنبا لإدخال مركبات كيماوية صناعية الى أجسامنا قد لايعرف تأثير إستخدامها على المدى الطويل وتظهر في المستقبل٠ والامر لم ينته بعد لأن هذا العلم مازال في طور النشأة وملامحه لم تستقر بعد وأنه يحوي الكثير من الجوانب السلبية وتحتاج الى فترة طويلة لإكتشافها وتحديدها، ثم حصر التعديل الوراثي فيما يفيد البشرية ولا يضرها٠

المخاوف الناشئة عن إنتاج المحاصيل المحورة وراثياً

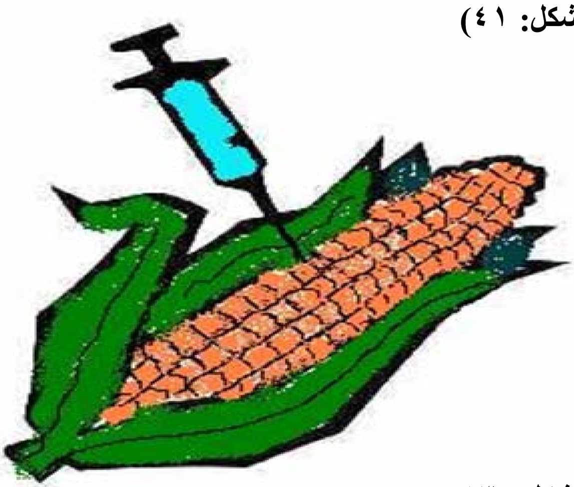
في الوقت الذي ينطوي فيه إدخال المحاصيل المحورة وراثياً على منافع محتملة، فقد أثيرت العديد من المخاوف بشأن مخاطرها المحتملة على صحة الإنسان والحيوان وعلى البيئة (أ شكال ٤١-٤٢-٤٣)٠ وأهم المخاطر الصحية، إحتمالات الإصابة بالسمية والحساسية من المواد الغذائية المستخلصة من منتجات التقنية الحيوية (الأغذية المحورة وراثياً) وإحتمال إكتساب مقاومة للمضادات الحيوية٠ ومع ذلك، لا توجد دلائل قاطعة حتى الآن على تعرض صحة الإنسان لمخاطر جراء استهلاك الأغذية المحورة وراثياً والمتداولة الآن

في الأسواق. وقد وضعت هيئة الدستور الغذائي مبادئ عامة ومبادئ توجيهية لتقدير سلامة الأغذية المنتجة بإدخال الحمض النووي في خلايا النباتات الغذائية وفي الكائنات الدقيقة وإجراء إختبارات الحساسية على الأغذية المحورة وراثياً. وتتضمن هذه المبادئ توجيهات وإرشادات للبلدان الأعضاء فيما يتعلق بتقييم سلامة الأغذية المحورة وراثياً المنتجة داخل حدودها. كذلك فإن إنتاج اللقاحات والمنتجات الصيدلانية الأخرى من المحاصيل الزراعية المعدلة وراثياً قد يمثل مخاطر في المستقبل بالنسبة لتكاليف الإشراف التنظيمي، والعزل والتكاليف الأخرى المرتبطة بذلك.

وفيما يتعلق بالبيئة، توجد مخاوف من النتائج التي يمكن أن تترتب على إقحام مورثات منقولة من كائن إلى كائن آخر وتدفق هذه المورثات، وخصوصاً في المراكز الأصلية لإنتاج المحاصيل، ومخاطر ذلك على الكائنات غير المستهدفة، وكذلك اضمحلال المورثات، وإكتساب الآفات للمقاومة، وظهور أعشاب وحيوانات عملاقة (شكلى ٤٢ و ٤٣)، ودخول الكائنات المحورة وراثياً بشكل عرضي في المنتجات الزراعية دون أن يخضع ذلك للضوابط والسياسات المناسبة.

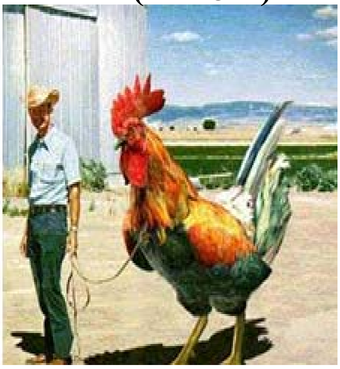
وتسمح جوانب التقدم التي تحققت في ظهور تقنيات تمنع ظهور العوامل الوراثية بإنتاج نباتات تنتج بذوراً عقيمة، مما يؤثر على احتفاظ صغار المزارعين ببذور لزراعتها في الموسم التالي. وبالإضافة إلى ذلك، مازال يوجد العديد من الثغرات المعرفية فيما يتعلق بتأثير المحاصيل المحورة وراثياً على مستلزمات الإنتاج الزراعي، والموارد، والممارسات الزراعية التقليدية، والنظم الزراعية والنظم البيئية المحلية، وخصوصاً بالنسبة للمناطق المدارية التي يقع إقليم الشرق الأوسط داخلها.

(شكل: ٤١)



(شكل: ٤٢)

(شكل : ٤٣)



أشكال ٤١-٤٢-٤٣: المخاوف الناشئة عن إنتاج المحاصيل المحورة

ومن بين المخاوف الأجتماعية والإقتصادية أن تقنيات تعديل الصفات الوراثية تمتلكها الشركات الزراعية الكبيرة ويكون ذلك على حساب صغار المزارعين الأكثر حاجة إلى زيادة الإنتاجية٠ فلم يستثمر القطاع الخاص أو القطاع العام بدرجة ملموسة في التقنيات الوراثية الجديدة التي يمكن تطبيقها على المحاصيل المحلية أو المحاصيل غير الرئيسية مثل اللوبيا، والذرة الرفيعة وغيرها من المحاصيل شديدة الأهمية فيما يتعلق بتوفير الإمدادات الغذائية وسبل المعيشة لأفقر السكان٠ وإذا كانت تقنيات المحاصيل المحورة وراثياً تحميها براءات إختراع، سيكون لذلك آثار مهمة أيضاً على نوع البحوث التي ستهتم بها الجهات البحثية، والمنتجات التي سيتم إستنباطها وقدرة صغار المزارعين على الإستفادة منها٠

المخاوف الناشئة عن الحروب البيولوجية

تذكر اللجنة الدولية للصليب الأحمر في معرض إنتقادها لبعض جوانب إستخدامات التكنولوجيا الحيوية؛ إن التاريخ قد أظهر أن الكثير من التطورات المهمة في العلوم والتكنولوجيا تم تحويلها إلى إستخدامات عدائية، وليست الكيمياء والطيران والإلكترونيات والفيزياء النووية إلا بعض أمثلة وقد تسهل نتائج ثورة التكنولوجيا الحيوية تطوير الأسلحة البيولوجية وإستخدامها إما في المنازعات المسلحة أو كوسيلة لنشر الرعب بين المدنيين وقد يصبح نشر المرض متعمداً، والقدرة على تغيير وظائف الجسم دون معرفة الشخص بصورة أسهل، وأكثر فتكاً وأقل تكلفة وأكثر صعوبة في الإكتشاف، وتضيف اللجنة الدولية للصليب الأحمر في موقعها على الإنترنت أنه يمكن التلاعب بعوامل الحرب البيولوجية المعروفة لجعلها أسهل إستخداماً ويكون ذلك عبر التلاعب بالتركيب الجيني لعناصر الحرب البيولوجية القائمة مثل الأنثراكس،

وذلك لزيادة إمكان إستخدامها كسلاح، فعلى سبيل المثال يمكن جعلها مقاومة للمضادات الحيوية والعوامل البيئية السيئة مثل الجفاف والأشعة فوق البنفسجية وبحيث لاتصل ضارة في الأحوال العادية. كذلك يمكن تحويل الميكروبات غير الضارة إلى ميكروبات خطيرة بعد التلاعب بهندسة الميكروبات غير الضارة والتي نتعايش معها يومياً كي تنتج سموماً خاصة تسبب المرض.

هذا الأمر يجعل تلك الأنواع الجديدة من الأسلحة البيولوجية أكثر جاذبية بل تمثل مصدر قلق آخر في العوامل البيولوجية الموجودة في لقاحات مأمونة ومألوفة لدينا. وقد إستهدفت أبحاث أخرى أجريت في جنوب أفريقيا في الثمانينات العثور على لقاح يحوي عنصراً يمكنه بصورة خفيفة أن يقلل الخصوبة لدى السكان المستهدفين ومن حسن الحظ لم يصل هذا اللقاح إلى مرحلة الإنتاج. وكذلك قد تؤدي الأبحاث إلى نتائج غير مقصودة ولكنها خطيرة. ويمكن أن تؤدى أبحاث أخرى تجرى بنية حسنة إلى معلومات عن كائنات جديدة وخطيرة. فقد صنع أخيراً الباحثون- دون قصد- نسخة أكثر خطورة من فيروس جدري الفئران، وهو فيروس مشابه لفيروس الجدري. وقد نشرت التجربة بعد تفكير متأنٍ من الباحثين وكإنذار ينبه إلى خطورة تلك الأبحاث. والأمر الثاني الذي يدعو إلى القلق هو إمكان فقد السيطرة عن العوامل البيولوجية التي تطلق بقصد أو بدون قصد ويمكن خلق فيروسات إصطناعية بالغة الخطور.

ففي عام ٢٠٠٢ م صنع العلماء فيروساً يسبب شلل الأطفال من جزء من الحامض النووي والمعلومات الجينية المتاحة على الإنترنت. وسبب هذا الفيروس المخلق إلى حدوث المرض عند حقن الحيوانات به، ويعتقد أنها المرة الأولى في تاريخ البشرية التي أمكن فيها خلق فيروس من مواد تركيبية. ويعتقد الخبراء أنه سيتاح في المستقبل القريب إمكانية خلق أي فيروس بهذه الطريقة،

بما فيها أخطر الفيروسات٠ وتضيف اللجنة الدولية للصليب الأحمر أنه يمكن أن تكون هناك هجمات غير قابلة للكشف بعد أن يتم تغيير وظائف الجسم وخصوصاً في مجال ما يعرف بالمواد البيولوجية المنظمة وهي مواد كيميائية توجد بشكل طبيعي في الجسم، وعندما يتغير تركيزها، حتى لو بمقدار ضئيل جداً، فإنه يمكن تغيير وظائف مثل السلوك والوعي والخصوبة ودرجة حرارة الجسم بحيث تتغير تغيراً كبيراً٠ وهناك بحث جار يوضح كيفية وصول هذه المواد الكيماوية إلى الجسم عن طريق الإستنشاق، وسيكون من الصعب إكتشاف أي هجوم بإستخدام المنظمات البيولوجية، كما سيكون من شبه المستحيل إثبات وجودها عن طريق إختبار الضحايا٠

إنطلاقاً من هذه الخلفية بدأت بعض الجهات التحدث عن الأسلحة الجينية، فقد كان هناك جدال كبير عمّا إذا كان من الممكن تصنيع أسلحة تستهدف مجموعات عرقية أو عنصرية عبر إستهداف صفات وراثية تؤدي إلى اختلافات عنصرية وعرقية ويعتقد بعض الخبراء أن هذا قد يكون ممكناً في المستقبل القريب إلا أنه لمن المؤكد التأثير على الزراعة وتتوارى المخاوف التي تتعلق بالمواد البيولوجية التي قد تستهدف البشر مع مخاوف في شأن المواد التي يمكنها تدمير الزراعة والبنية الأساسية المدنية والتجارية وقد تكون لتلك المواد آثار خطيرة على الحياة البشرية ويمكن إستخدامها في الحروب ويقول الصليب الأحمر إن الفشل في منع إستخدام المواد البيولوجية يقوض بشدة المعاهدات الدولية القائمة منذ زمن طويل والتي تحظر إستخدام الأسلحة البيولوجية وسيضعف هذا على وجه الخصوص بروتوكول جنيف عام ١٩٢٥ لحظر إستخدام الغازات الخانقة أو السامة أو الغازات الأخرى، وبروتوكول وسائل الحرب البكتريولوجية الذي يحظر إستخدام الأسلحة البيولوجية٠ كما سيضعف إتفاق الأسلحة البيولوجية عام ١٩٧٢ والذي يجرم تطوير الأسلحة

البيولوجية وإنتاجها وتخزينها وإمتلاكها والإحتفاظ بها ونقلها وتنبثق القواعد التي تشملها تلك المعاهدات من الخوف العالمي الذي يتملك البشر من تعرضهم للسموم أو إصابتهم بالمرض٠

ثورة الكواشف الحيوية الميكروبية والإستخدامات البيئية

إن عالم الميكروبات عالم واسع ومتنوع ويكاد يحتل كل جزء من حياتنا علي سطح الأرض فتتواجد الميكروبات في أعمق أعماق المحيطات والبحار وأعلي أعالي الجبال وهي توجد في المناطق الحارة فبعضها يعيش بالقرب من فوهات البراكين حيث درجة الحرارة العالية، كما توجد بين طيات الچليد فبعضها يعيش على عمق يزيد عن ٤٠٠ متر تحت الثلج٠ كما نجدها في الغذاء الذي نأكله، الفراش الذي ننام عليه، الماء الذي نشربه والهواء الذي نتنفسه، بالإضافة إلي أنها توجد في التربة وداخل أمعاء الإنسان وفي أجهزة الهضم لبعض الحيوانات المجترة٠ وبل ترافق الميكروبات الإنسان والحيوان والنبات رفقة أبدية حتي بعد الموت٠ أما الحقيقة التي لا يعرفها كثير من الناس أن السواد الأعظم من الميكروبات لا تسبّب مرضاً (مع أن بعضها ممرض) ولا يجب التعامل معها علي أنها عدو ليس له من فرصة للنجاة الا الموت، فالميكروبات دخلت بكثافة وخاصةً في السنوات الآخيرة في الكثير من الصناعات وخاصةً الصناعات الغذائية والطبية والزراعية والصيدلانية ومعالجة تلوث المياه والتربة وإنتاج الطاقة، كما أنها تستخدم ككواشف حيوية **Biosensors** أو بمعني آخر إنها تستخدم كأجهزة تحليل بيولوجية٠

تعريف الكواشف الحيوية Biosensors Definitions

الكواشف الحيوية هي مكون أو جهاز كشف حيوي يتكون من تداخل البكتيريا الكاملة أو بعض منتجاتها كالإنزيمات والأجسام المضادة بأداة

إلكترونيـة لإنتـاج إشـارة قابلـة للقيـاس٠ وللإشـارات الألكترونيـة العديـد مـن النوعيات القابلـة للقيـاس مثـل الكثافـة والخصـائص الطيفيـة، كمـا أن الطـاقـة قابلـة للقيـاس أيـضا مـن خـلال عـدد الوحـدات الألكترونيـة المتحرّكـة٠ وهـذا يماثـل بالـضبط مـا يحـدث فـي مـخ الإنـسان حيـث تـستعمل الإشـارات الـضوئية والألكترونيـة للسيطرة علـى وظـائف الجسم المختلفـة٠ وينتج عن هذا الكاشـف الحيوي التفاعل بين المادة البيولوجية ومادة التفاعل المراد قياسها تغيراً يتحـول إلي نبضة أو إشارة إلكترونية أو كهربائية بواسطة محول مناسب للطاقة٠

وتصمم أجهزة الكواشف الحيوية للإحساس بالتغير والإستجابة له، ويـتم تـضخيم الإشـارة الكهربيـة فـي جهـاز الاحـساس البيولـوجي لتعطـي شيئاً يمكـن قراءتـه علـي شاشـة رقميـة أو طابعـة، وهنـاك العديد مـن أنـواع التغيـرات التـي تحـدث فقـد تكـون عبـارة عـن إنطـلاق حـرارة أو ضـوء أو تغيـر فـي الأس الهيـدروجيني **PH** أو فـي الكتلـة أو إنتـاج مركـب كيميـائي جديـد٠ وللكواشـف الحيويـة أشـكال متعـددة وأحجـام تـستعمل عـادة لمراقبـة التغيـر فـي الظـروف البيئيـة٠ ونـستطيع بإسـتخدام هـذه الكواشـف الحيويـة إكتـشاف وقيـاس تجمعّـات بكتيريــة معيّنــة والمــواد الكيمياويــة الخطــرة أو قيــاس مــستويات الحموضــة وبإختصار نحن نستطيع الأن إستعمال البكتيريا للكشف عن البكتيريا في نفس الوقت٠

لماذا الكواشف الحيوية ؟

كمـا هـو معـروف فـإن تكنولوجيـا التخمـرات **Fermentation Technology** تلعـب دوراً رئيـسياً فـي ثـورة التكنولوجيـا الحيويـة ومنتجاتهـا الحديثة٠ ويمكن تقدير معظم المـواد أو البيئـات المغذيـة التـي تـستخدم كعناصـر مغذيـة للميكروبـات المنتجـة داخـل هـذه المخمـرات بطـرق تقليديـة مثـل إسـتخدام

أجهـزة القياسـات الـضوئية Spectrophotometers ، هـذا إذا كانـت هـذه البيئـات مكونـة مـن مـواد خـام طبيعيـة غيـر مخلقـة صـناعياً أمـا إذا كانـت مـواد مصنعة فستصبح عملية تقديرها أثناء عملية التخمر أمراً صـعباً٠ ولا تقتصر أو تحتكـر طـرق كـشف سـريعة وحـساسة علـي تكنولوجيـا التخمـرات والعمليـات البيوكيميائية فقط بل إن هناك حاجة ماسة لمثل هذه الكواشف والمقاييس لإجراء تحليلات تشخيصية سريعة ودقيقـة وخاصـةً لمرضـي العنايـة المركـزة، كمـا أن التـشخيص الـسريع لتـأثير الأدويــة علــي الجـسم والإنزيمــات والفيتامينــات والهرمونـات يعتبـر أمـراً فـي غايـة الاهميـة يـساعد فـي سـرعة تطـوير الأدويـة الفعالـة للأمـراض المختلفـة٠ كمـا أن هنـاك حاجـة ملحـة أيضاً لكواشـف تـستخدم لرصـد وتقييم جـودة البيئـة مـن حولنـا سـواء فـي المـاء (الـسطحي والأرضـي)، التربة والهواء والتلوث الغذائي٠

أنواع الكواشف الحيوية الميكروبية Microbial Sensors Types

١. الكواشـف الحيويـة الإلكتروكيميائيـة **Electrochemical Microbial Sensors**

وتتكـون هـذه الكواشـف مـن ميكـروب مثبـت علـي غشـاء مـا (مثـل أغشية النيتروسليلوز وغيرهـا) والـذي يثبـت بـدوره علـي جهـاز الكتروكيميـائي٠ ويمكن تقسيم هذه الكواشف إلي قسمين:

أ) كواشـف حيويــة تـستخدم لرصـد النـشاطات التنفـسية **Respiration sensors** وفي هذا النوع من الكواشـف الحيويـة عـادة مـا تقـاس التغييـرات الحيويـة الحادثـة بالزيـادة نتيجـة عمليـات التـنفس التـي تزيـد نتيجـة زيـادة إسـتهلاك عنـصر الأوكـسجين فــي البيئــات المحيطــة، والميكروبــات المستخدمة في هذا الكاشـف هـى ميكروبـات هوائيـة التـنفس (لا تعيش إلا في وجود عنصر الأوكسجين) حيث تغمس إلكترودات الأوكسجين المثبت

عليها الغشاء المحمل بالميكروب الكاشف في محلول مشبع بالأوكسجين يضاف إليه عينة من المادة المراد قياس تركيزها فتنشط الميكروبات المحملة علي الكاشف لتتغذي علي هذه المادة وبالتالي تستهلك جزء من الأوكسجين المحيط بها الذي يمكن قياسه وتحديد العلاقة بين الأوكسجين المستهلك وتركيز المادة المختبرة٠

ب) كواشف حيوية تستخدم لرصد النشاطات الإيضية **Metabolism sensors** ويقصد بالنشاطات الايضية التغيرات الحيوية الناتجة عن عمليتي البناء والهدم في الميكروبات نتيجة وجود مادة ما في الوسط المحيط بها ومن هذه التغيرات الحيوية خروج الهيدروجين والأمونيا وثاني أكسيد الكربون أو الأحماض العضوية من الخلايا الميكروبية للوسط المحيط بها ومن خلال قياس تركيز هذه النواتج الحيوية يمكن قياس تركيز المواد المراد إختبارها٠

٢- الكواشف الحيوية الضوئية **Photo-biosensors** تعتمد علي قياس الكثافة الضوئية المنبعثة من بعض الميكروبات وخصوصاً البكتيريا المضيئة مثل الفيبريو فيشراي و الفوتوبكتيريوم فوسفوريوم وغيرها من البكتيريا المنتجة للضوء٠ وفي الحقيقة يعتمد حجم الكثافات الضوئية المنبعثة من هذه الأنواع البكتيرية علي التأثيرات الخارجية المحيطة بهذه البكتيريا من تباين في البيئات المغذية وظروف النمو كدرجة الحرارة والرطوبة والحموضة وغير ذلك الأمر الذي يسهل إيجاد علاقة يمكن قياسها بين حجم الكثافات الضوئية المنبعثة من هذه الأنواع البكتيرية والتعرض لمواد محددة يراد قياسها٠ وترجع ميكانيكية إنبعاث الضوء من هذه الميكروبات إلي قدرتها علي إنتاج إنزيم يسمي الوسيفيراز المضيء٠ ويتأثر خروج هذا الانزيم بالظروف البيئية المحيطة بالميكروب وطبقاً

لذلك فإن العناصر المغذية لهذه الميكروبات مثل الچلكوز والأحماض الامينية ومثبطات نموها مثل المواد العضوية السامة والمعادن الثقيلة فيمكن قياسها٠ ويعتبر قياس الضوء الخارج من هذه الميكروبات أكثر حساسية من الكواشف الحيوية الآخري مجتمعة٠

وتعتبر المجموعة التشخيصية ميكروتوكس (**Microtox**) من أشهر وأكثر المجاميع التشخيصية علي المستوي التجاري التي تستخدم الميكروبات الضوئية وخصوصاً بكتيريا الفوتوبكتيريوم فوسفوريم كأداة لقياس درجة سمية عينة ما٠ ورغم نجاح هذا الإختبار في هذا المجال إلا أنه مع كثرة إستخدامه ظهرت بعض العيوب مثل إحتياجة لمحاليل منظمة خاصة وعدم إعطاء قراءات ثابتة عند إعادة التجارب علي نفس العينة عدة مرات، كما أنه لا يصلح للإستخدام في المتابعة الفورية المستمرة بالإضافة إلي أن الميكروب المستخدم فيه لا يمثل العشائر الميكروبية الموجودة في أماكن ذات ظروف بيئية قاسية٠ ولتلافي عيوب هذا الإختبار، قام علماء الهندسة الوراثية بتصميم كواشف حيوية ميكروبية منتجة للضوء أكثر ثباتاً وقدرة علي المعيشة في الظروف البيئية الصعبة، ومن هذه الكواشف المهندسة وراثياً الكواشف الحيوية الضوئية المتخصصة وتحمل هذه الكواشف نوعيين من الجينات، النوع الأول عبارة عن جينات مسؤولة عن إنتاج ضوء معين (الوسيفيراز) تتأثر شدته تبعا لتركيز المادة المقاسة وتسمي بجينات المراسل (**Reporter genes**) والنوع الثاني من الجينات عبارة عن جينات تشغيل (**Promoter genes**) متخصصة لا تعمل إلا في وجود المادة المحفزة لها، وتزداد الكثافة الضوئية هنا حسب زيادة تركيز المادة التى يقدرها المصمم الكاشف٠ وفي بعض الأنواع الميكروبية التي تعمل في ظروف نقص الأوكسجين (ميكروبات لاهوائية) تستبدل الجينات الخاصة بإنتاج الوسيفيراز بجينات خاصة بإنتاج البروتين الاخضر

الفلوريسينتي (**GFP**) والذي يعطي ضوءاً أخضر يمكن قياسه دون الحاجة لوجود الأوكسجين في البيئة المحيطة. وهناك كواشف حيوية ضوئية غير متخصصة: وتحمل هذه الكواشف نوعين من الجينات أيضاً، النوع الأول هو جينات المراسل والنوع الثاني من الجينات عبارة عن جينات تشغيل غير متخصصة تعمل في وجود أي مادة فهي تنتج بروتين الوسيفيراز في أي وقت وبصفة مستمرة. وتصلح هذه الكواشف عادة في الكشف عن درجة سمية مركب أو عينة أو وسط بيئي ما وذلك عن طريق قدرة هذا المركب علي قتل جزء أو كل الميكروبات المختبرة وبالتالي تقل كمية الضوء المنبعثة نتيجة نقص عدد الخلايا ويعتبر هذا الإختبار هو البديل الأمثل للمنتج التجاري ميكروتوكس.

٣- الكواشف الحيوية الميكروبية الحرارية **Thermistor** والتى يمكن أن تصمم بوضع الميكروبات المثبتة علي حوامل معينة داخل جهاز مقفل يستطيع أن يقيس درجة حرارة الوسط المحيط به. ويعتمد هذا الكاشف علي قياس الطاقة الحرارية المنبعثة نتيجة النشاط الميكروبي الناتج عن تلامس مادة التفاعل المراد قياسها مع جهاز القياس المحتوي علي الميكروبات. ولكن هناك لهذا النوع من الكواشف الحيوية الميكروبية بعض العيوب مثل إرتفاع ثمنه وعدم دقته وذلك لفقد جزء من الطاقة الحرارية يتسرب في الجزء المحيط بالجهاز وبالتالي لا يمكن قياسة.

ويمكن هنا إجمال الطرق المستخدمة حالياً في رصد ومتابعة حركة المواد الكيمائية السامة والكشف عن الميكروبات الممرضة في طريقتين أساسيتين:

١) طرق التحليل التقليدية **Conventional Analysis Methods**

عـادة مـا تعتمـد هـذه الطـرق علـي تحـاليـل كيمائيـة وفيزيائيـة كالتحـاليـل الكروماتوجرافيـة والإيونيـة والكاتيونيـة وغيرهـا وتعتبـر طـرق دقيقـة وحـساسة لحـد كبيـر وتمـدنا بالتراكيـب الحقيقيـة لأي عينـة ولكـن مـن ناحيـة آخـري فـإن إستخدام هذه الطرق يحاط بكثير من التعقيدات فهي تحتـاج لأجهزة معقدة غاليـة الثمن غير موجـودة فـي أي معمـل كمـا تحتـاج هـذه الاجهزة لخبرات فنيـة عاليـة لإجرائها، ناهيك عن الوقت الطويل الذي يستهلكه تجهيز العينات وتحليلها٠ كما أنه برغم دقة وحساسية هذه الطرق فإنها لم تقدم لنـا الطريقـة التـي يتم بهـا تقدير درجـة قابليـة الملوثـات للتحلـل البيولـوجي، ودرجـة تـأثير هـذه الكيماويـات علـي النظم البيولوجية وتأثيراتها تحت الظروف الطبيعية عند وجودها في مخاليط مع غيرها من المركبات الكيمائية الآخري٠

٢) طرق التحليل البيولوجية **Biological Analysis Methods**

كإستجابة من العلماء البيولوجيين لتلافي عيوب الطرق التقليدية ظهرت التحـاليـل البيولوجيـة٠ وعلـي العكـس مـن الطـرق التقليديـة فـإن طـرق التحليـل البيولوجية أُستخدمت بكفاءة عالية منذ زمن طويـل لقيـاس سمية عينـة أو مركـب مـا علـي الكـائن الحـي٠ علـى أيـة حـال تعتبـر الطحـالـب والاسماك مـن الكائنـات الحية التي أُستخدمت عند تطبيق هذه الإختبارات البيولوجية، إلا أنه يعاب عليهـا إنخفـاض درجـة حساسيتها وإحتياجهـا لوقـت طويـل لإتمـام الإختبـار، لـذى لجـأ العلماء للبحث عن بديل آخر حيوي يتلافي هذين العيبين٠

ومن هنا ظهر إستخدام الميكروبات ككواشـف حيويـة بـدلاً مـن الكائنـات الحية الأخري وعلي الأخص البكتيريا لما تتميز به من سرعة فـي معدل النمـو والثبات الوراثي وإنخفاض تكاليف إنتاجها حيث لا حاجـة لعزل أو إستخلاص

بروتينات أو إنزيمات بالإضافة إلي أنها تتحمل ظروف بيئية قاسية من التباين في درجات الحرارة والحموضة ووفرة العناصر الغذائية، ومن فوائدها أيضاً أن فترة صلاحيتها أطول بكثير عن الكواشف الحيوية الآخري٠ هذا بالإضافة إلى ما تتميز به البكتيريا عن غيرها من الكواشف الحيوية الأخري من سرعة إجراء الإختبارات عليها وأن درجة حساسيتها وإستجابتها للوسط المحيط بها عالية جداً٠

تطبيقات الكواشف الحيوية Application of Biosensors

١- فى مجال الصحة العامة Field of Public Health

عند التحدث عن أول الكواشف الحيوية يجدر الإشارة إلي أن لمرض السكر الذي يصيب عدد كبير من البشر في كل أنحاء العالم الفضل في نشوء فرعين هامين من العلوم كان وسيكون لهما تأثيراً حيوياً كبيراً علي النهضة والتطور المتلاحق الذي تعيشه البشرية الآن وهما علم الهندسة الوراثية الذي كان أول منتجاته التي دخلت مجال التسويق هو هرمون الأنسولين البشري الذي أُنتج في بكتيريا ***E. coli*** المهندسة وراثياً في بداية الثمانينات من القرن الماضي والعلم الثاني هو علم الكواشف الحيوية٠

ففي عام ١٩٣٠ وفي الولايات المتحدة الأمريكية وحدها مات حوالى ١٠ % من الناس بسبب مرض السكّر، المرض الذي كان يشكل أيضاً مشكلة عالمية في ذلك الوقت٠ وكان من نتائج البحوث العلمية التي أجريت علي مرضي السكر وجود الإضطرابات الأيضية **Metabolism** في الجسم الإنساني نتيجة لزيادة تركيز الچلوكوز في الدمّ٠ وفي عام ١٩٢١ إستطاع العالم هاربيرت إكتشاف هرمون الأنسولين الذي يُفرز من البنكرياس ويقوم بضبط تركيز الچلوكوز في الدم٠

لكن وُجد أنه إذا كان البنكرياس غير قادر على إنتاج وإفراز هرمون الأنسولين بكمية كافية لإتمام عملية ضبط مستوي السكر فإن تركيز الچلوكوز في الدمّ يزداد مسبباً مرض السكّر٠ بعد ذلك أمكن إنتاج هذا الهرمون وإعطائة لمرضي السكر عن طريق الحقن كطريقة للمعالجة٠ لكن ولضمان نجاح المعالجة بالأنسولين ظهرت حاجة كلاً من الأطباء والمرضي إلى وسيلة مراقبة مستمرة لتركيز السكر في الدم بغرض التدخل والسيطرة على المرض في الوقت المناسب٠ ولذا في عام ١٩٦٢ إستطاع العالم الأمريكي ليلند كلارك تطوّير أول كاشف حيوي لمراقبة تركيز الچلوكوز في الدم بشكل مستمر ويعتبر هذا المنتج أحد أهم المنتجات التجارية الناجحة علي مستوي العالم كله٠

ومن المتوقع حدوثه قريباً أنه يمكن زرع هذا الكاشف الحيوي في الأوعية الدموية في جلد المريض مما يمكنهم من رصد إحتياجاته من الأنسولين بشكل أدق، فإذا تم توصيل هذه الاداة بمضخة دقيقة يمكن إطلاق الأنسولين منها بشكل تلقائي عند الحاجة إليه، وهذا في الواقع يمثل إمداد المريض ببنكرياس تلقائي، وهذا التحكم الدقيق سيقلل بدون شك من الاعراض الجانبية لمرض السكر كالتأثير علي العين وإتلاف الكلى التي يعاني منها بعض مرضي السكر نتيجة حدوث إرتفاع وإنخفاض غير دقيقة لتركيز الأنسولين والذي يحصل عليه المرضي عن طريق الحقن٠

إذن يعتبر المجال الطبي الآن من أكثر المجالات إستخداماً للكواشف الحيوية وهي مفيدة خاصةً في التشخيص الاكلينيكي٠ فإستخدام الكواشف الحيوية يقلل من المخاطر والأخطاء الناتجة عن عملية التشخيص كما يقلل أيضاً من التكلفة٠ وما إن يتم بناء هذه الكواشف علي نطاق واسع، فتتيح للممارس العام إختبار مرضاه في عيادته بدلاً من اللجوء الي معامل

المستشفيات مما يوفر المال ويجنب المريض الحاجة لمعاودة المستشفي عدة مرات للحصول علي نتائج التحاليل والتشخيص كما أنه يمكن بدء العلاج بشكل أسرع. كما أن لإستخدام الكواشف الحيوية مميزات أخري مثل صعوبة حدوث أخطاء في عملية التداول لعينة المريض أو فقدها او تلوثها وهذا بالطبع سيكون مفيداً في الكشف عن العقاقير لدي الرياضيين، حيث توجد محافظ للكواشف الحيوية الآن تستخدمها الشرطة والاطباء للكشف عن كميات صغيرة من العقاقير . كما تجدر الإشارة هنا إلي مدي ما يمكن أن يضيفه علم الكواشف الحيوية للبشرية وخاصة في المجال الطبي.

وعما قريب سنجد كاشف حيوي يوضع علي طرف الأصبع وبحجم رأس الدبوس وربما أصغر من ذلك ليعطي دلالات عن حالة الجسم العامة مثل درجة الحرارة، ضغط الدم، مستوي الأوكسجين في الدم والحالة العصبية والمزاجية للإنسان. وسيتم ذلك عن طريق إستقبال إشارات ألكترونية منبعثة من هذا الكاشف الحيوي علي جهاز كمبيوتر صغير بحجم كف اليد موضوع أمام الطبيب المعالج علي مكتبه أو مع المريض نفسة في منزله ليعطي النتائج المطلوبة في ثوان معدودة ودون الحاجة لأجراء تحاليل باهظة الثمن وليست بالدقة الكافية. و هذه ليست مجرد أفكار أو شطحات علماء في معاملهم بل دخلت في حيز التنفيذ الفعلي وأستطاع أحد العلماء تصميم شريحة رقيقة من السليكون (٢مم) توضع علي الچلد لتعطي قراءة فورية لدرجة حرارة الجسم وتقوم بعض المعامل الاخري بتطوير هذا الكاشف الحيوي ليقيس أيضاً مستوي تركيز الأوكسجين في الدم عن طريق رصد درجة التغير في لون الدم الاحمر نتيجة إرتفاع أو إنخفاض مستوي الأوكسجين في الدم، ليس هذا فحسب بل أنه أمكن أيضاً إنتاج كواشف حيوية للكشف عن السرطانات وتمييز الحميد منها عن الخبيث وما زال التطوير والتحديث مستمراً.

٢- في مجال الهندسة الوراثية Field of Genetic Engineering

من المعروف أن المادة الوراثية تتكون من أربعة حروف هجائية تدل عليها ومعرفة لها كأي لغة حية يتعامل بها الجنس البشري٠ وكما تقول الحكمة أن المرء مخبيء تحت لسانه فإذا تكلم عرف، أصبح الآن معرفة تتابع هذه الحروف هو البصمة الوراثية التي تميز كل كائن حي عن الآخر، وبين الأنواع المختلفة، بل كل شخص عن غيره داخل كل نوع٠ ولمعرفة وفك شفرات التتابع الوراثي للإنسان - فيما عرف بمشروع الجينوم البشري- أستغرق ذلك عدة سنوات أنفقت خلالها أموال طائلة٠ لذلك تقوم الآن معامل عديدة في العالم بتطوير طرق جديدة لقراءة تتابع المادة الوراثية للكائنات الحية بإستخدام الكواشف الحيوية لتعطي سرعة عالية ودقة فائقة وأسعار منافسة بما يماثل تحديد وتعيين فصيلة الدم عند الإنسان أو إختبار الحمل عند السيدات وما شابه ذلك من التحاليل السريعة والبسيطة الرخيصة الثمن٠

٣- إستخدامات أخري Other Uses

إن أحد أكبر الإستخدامات للكواشف الحيوية الميكروبية هو إستخدامها في تنظيم العمليات الصناعية ومراقبة جودة البيئة فقد أمكن إستخدام خلايا حية (خميرة او بكتيريا) بالإرتباط مع الكترودات لقياس الأحماض الأمينية والكحول والفينول والميثان والعديد من السكريات المختلفة والمضادات الحيوية حيث يمكن رصد الظروف الداخلية للمخمرات والذي يعتبر مفيداً في المزارع المستمرة٠ وقد تمكن عدد من العلماء من إنتاج كواشف حيوية بيئية لها القدرة علي المتابعة المستمرة لحالة عمليات تنقية البيئة من الملوثات الصناعية مثل الكلوروإيثيلين الثلاثي والبنزيين والتولوين والنفثالين والفينول وعديد من مركبات البترول الاخري وبدأ الخروج بهذه الكواشف الحيوية من الإختبارات

المعملية إلي حيز التطبيق علي نطاق واسع٠ ويتوقع أن يتم إستخدام الكواشف الحيوية مستقبلياً في مجالات الزراعة والطب البيطري والدفاع والأغراض العسكرية (الكشف عن غازات الاعصاب والسموم والمفرقعات والبكتيريا والفيروسات الفتاكة)٠

نخلص من كل ما سردناه عن أسس وتطبيقات الكواشف الحيوية الميكروبية إلي أن هذه الكواشف تعتبر ثورة علمية جديدة تتآلف لإنتاجها مجموعة من العلوم المختلفة كالبيولوجيا والميكروبيولوجيا والهندسة الوراثية والمعلوماتية الحيوية والإلكترونيات وغيرها وأن تطور هذه الكواشف مرهون بل مرتبط إرتباطاً وثيقاً بتطور كل هذه العلوم مجتمعة٠ كما يجدر بنا هنا أن نستخلص سريعاً اهم ما يميز هذه الكواشف عن غيرها من طرق الرصد الآخري٠ فتتميز الكواشف بقدرتها الفائقة علي التمييز بين المواد المراد قياسها والمواد الأخري القريبة الشبه منها٠ ونظراً لأن الكواشف الحيوية تعطي قيم للقياس في الحال دون الحاجة للإنتظار فترات طويلة للحصول علي النتائج فأنها تعتبر الطريقة التحليلية الأسرع مقارنة بالطرق التحليلية العادية٠ كما لايحتاج القياس بالكواشف الحيوية إلي أخذ عينات وإجراء تجهيز لها قبل التحليل بل يكفي أن تغمس الكاشف في المادة المراد قياسها لتحصل على نتائج فورية٠ ومن أهم ما يميز الكواشف الحيوية الميكروبية أنه يمكن إستخدامها لمرات عديدة علي عكس إختبارات المناعة أو الإنزيمات التي تستخدم لمرة واحدة فقط٠

منظمة الأغذية والزراعة والتقنية الحيوية

FAO and Biotechnology

تقوم منظمة الأغذية والزراعة بتزويد البلدان الأعضاء بمعلومات وتحليلات علمية وموضوعية عن التقنية الحيوية وتطبيقاتها في قطاعات الصناعات الزراعية، والمحاصيل، والثروة الحيوانية، والإسماك، والغابات، نظراً لمساهمتها الممكنة في مواجهة التحديات في مجال إنتاج الأغذية والزراعة المستدامة في المستقبل.

تشترك منظمة الأغذية والزراعة ومنظمة الصحة العالمية في تقديم المشورة العلمية للبلدان الأعضاء ولهيئة الدستور الغذائي بشأن تقييم سلامة الأغذية المنتجة بإستخدام التقنية الحيوية، ومن الضروري إدماج بحوث وتطوير الكائنات المحورة وراثياً في خطط البحوث الزراعية المصرية في بلدان الشرق الأوسط، وربطها بالأنشطة ذات الصلة على المستويات المصرية، والعالمية والدولية. وتساند منظمة **FAO** البلدان الأعضاء في بناء القدرات ونشر المعلومات عن القضايا المهمة المتصلة بالكائنات المحورة وراثياً في قطاعي الأغذية والزراعة بالتعاون مع المنظمات العالمية، مثل مجلس التعاون الخليجي، وغيره من المنظمات شبه العالمية، ومع مراكز البحوث الزراعية الدولية، مثل المركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافة (إيكاردا).

ويعد تطوير العلوم والتقنية المحرك الذي يدفع إلى النمو والتقدم فى أى بلد. ومع ذلك، تعتمد التنمية الريفية على كثير من العوامل الأخرى التي تتراوح بين القدرات البشرية، والمؤسسات وشبكات التمويل والمقومات الطبيعية والمادية. وفي هذا السياق، وعلى الرغم من أن مساهمة التقنية

الحيوية قد تكون محدودة، فإنها يمكن أن تكون ذات أهمية كبيرة عندما تحرص برامج التقنية على ضمان استفادة جميع القطاعات من منافعها، بما في ذلك سكان الريف محدودو الموارد. ومن المؤكد أن إنجازات التقنية الحيوية في مجالات زيادة الإنتاجية، وزيادة تحمل المحاصيل للملوحة والجفاف، وإنتاج البذور الجيدة، والتوسع في الإستفادة من الأراضي الحديثة، وصيانة التنوع البيولوجي الزراعي والنظم الإيكولوجية المحلية، والعلاج الحيوي، يمكن أن تساهم في إنعاش المجتمعات المحلية الريفية عن طريق دعم التنوع والتنويع وزيادة إدماج الزراعة في التنمية الإقتصادية المصرية. ويمكن أن تكون التقنية الحيوية مكملة للتقانة التقليدية في المجالات الأخرى مثل تربية النباتات والري والإدارة المتكاملة للآفات وتغذية النبات وتربية الحيوانات والتغذية ونظم إدارة الأمراض، دون أن تكون بديلاً لها.

ويحتل بناء القدرات الأولوية فى هذا الصدد محل القلب فى الجسم، وكما أن منظمة الأغذية والزراعة على إستعداد لمساعدة البلدان الأعضاء في الشرق الأوسط - بالتعاون مع الشركاء الآخرين - في زيادة قدرتها على تطوير وتطويع وإستخدام التقنية الحيوية ومنتجاتها لتلبية إحتياجاتها من أجل تعزيز الأمن الغذائي، وتحسين مستويات المعيشة مع التقليل من المخاطر والآثار السلبية.

هل تلبّي التكنولوجيا الحيوية إحتياجات الفقراء؟

تملك المحاصيل الغذائية المهَندسة وراثياً إمكانيات هائلة كوسيلة ضد الجوع، فلم يُستغل إلى الآن غير القليل من تلك الإمكانيات عبر إعتماد الأصناف النباتية الوفيرة الغله، والمواد الكيميائية الزراعية، وتقنيات الري المستجدة في صلب النظم الزراعية. وجعلت الثورة الخضراء خلال حقبتي

الستينات والسبعينات في المتناول تعزيز الغلال الزراعية بوفرة والمساهمة في رفع الجوع والفقر عن كاهل الملايين، ومع ذلك، فهنالك الكثيرون من صغار المزراعين ممن لم يكتب لهم النجاة من الحلقة المفرغة لزراعة حد الكفاف اليومية بينما لم يزل ثمة ٨٤٢ مليون إنسان ممن لا يجدون ما يسد الرمق، ووفقاً لأحدث تقديرات منظمة **FAO** في هذا المجال فإن مليارات الأشخاص يعانون من نقص المغذيات الدقيقة فيما يشكل نمطاً متخفياً من سوء التغذية الناجم عن تناول وجبة غير كافية، وكذلك فالمقدر أن مليارى نسمة آخرين سيحتاجون في غضون السنوات الثلاثين المقبلة إلى كميات إضافية من الغذاء في حين تواصل قاعدة الموارد الطبيعية التي يستند إليها الإنتاج الزراعي إتجاه التضاؤل الراهن، فهل تسع "ثورة الجينات "أو إستخدام التكنولوجيا الحيوية في القطاع الزراعي، فى المساهمة في التصدي لمثل هذه التحديات؟ جدل شامل حسبما يُستخدم، فقد يتحول العلم إلى غولٍ رهيب أو ملاكٍ رقيق، فالثورة الخضراء على سبيل المثال ليست خاليةً من العيوب إذ يؤكد البعض أنها مسؤولة عن الإستخدام المفرط للموارد المائية ومبيدات الآفات والأسمدة الكيميائية، مما خلق إعتماداً مستمراً من جانب صغار المزارعين الفقراء على تلك المدخلات فضلاً عما سببته من أضرارٍ خطيرة للبيئة فى غضون مثل هذا السياق، واليوم فأن بروز صورة التكنولوجيا الحيوية مجدداً بوضوحٍ على الساحة إنما عاد ليثير جدلاً شاملاً على نفس النحو السابق، وتسليماً بأن بعض نماذج التكنولوجيا الحيوية شاع إستخدامه منذ آلاف السنين، مثلاً حين شرع أجدادنا الأوْل في الإستفادة من الكائنات الحيّة الدقيقة في إعداد النبيذ والأجبان والخبز، فأن الحقبة الراهنة من التكنولوجيا الحيوية أصبحت في المتناول بفضل تقنيات الجزيئيات الدقيقة التي "تلتقط ثم تضيف" المورثات من خليةٍ إلى أخرى، وفي الواقع فأن مثل هذه التقنيات الحديثة والبازغة للهندسة الوراثية

هي ما يكمن في قلب الجدل القائم ويؤدى إلى إضرام سعيره٠ ففي حين يعتبر المؤيدون لتقنيات الهندسة الوراثية أسلحةً ضرورية لمنازلة انعدام الأمن الغذائي وسوء التغذية في عموم البلدان النامية، يهبّ المعارضون لمثل هذه التقنيات محذرين من أنها ستنزل الدمار بالبيئة وتزيد الفقر والجوع سوءاً على سوء، وتفضي إلى إستيلاء المصالح التجارية للشركات على حيازات الزراعة التقليدية وعلى موارد الإمدادات الغذائية في كل مكان٠

وفي هذا الصدد يستعرض أحدث تقرير تصدره منظمة الأغذية والزراعة، ألا وهو "حالة الأغذية والزراعة في العالم، ٢٠٠٤"، هذه الحجج المؤيدة والمعارضة بين مؤيد ومعارض يقول تقرير منظمة الأغذية والزراعة الرئيسي أنه من جانب واحد، ثمة أسباب مقنعة للغاية بل وقاهرة، تدعو إلى إدخال تعديلات على التكوين الوراثي للمحاصيل الغذائية٠ فمن خلال مثل هذه التعديلات قد يتأتي زيادة غلة المحاصيل الغذائية وأصنافها عبر رفع الإنتاجية الزراعية والحد من التقلّبات الموسمية المؤثرة فى تلك الغلة٠ وفى الإمكان تطوير أصناف مقاومة للآفات وعالية التحمّل للإجهاد بصوره المختلفة، لتقليص أخطار الفشل المحصولي تحت ضغط الجفاف أو الأمراض٠

وقد يتسنى أيضاً زيادة محتوى النباتات من المغذيات والفيتامينات تلقائياً، تصدياً لظاهرة نقص المغذيات التي تبتلي بها أعداد ضخمة من فقراء العالم٠ بل وقد يمكن زارعة المحاصيل في التربة الفقيرة وسط المناطق الحديثة الإستزراع مما سيحقق زيادة عامة في الإنتاج الغذائي ككل٠ ولقد تتيح التكنولوجيا الحيوية أيضاً إمكانية الحد من إستخدام مبيدات الآفات ذات المحتوى السمّي، وفي الوقت ذاته تحسين أداء الأسمدة وغيرها من المدخلات التى تزيد من خصوبة التربة٠ غير أن دراسة منظمة الأغذية والزراعة تحذر في الوقت ذاته من أن التقييم العلمي للآثار البيئية والصحية المترتبة على

الهندسة الوراثية في النباتات المحصولية لم يزل في مراحله المبكرة ولا بد من أن يُستعرض كلٌ منها على أساس كل حالةٍ على حدة٠ وما تؤكده منظمة الأغذية والزراعة في تقريرها السنوي، علاوة على ذلك، أن ثمة ضرورةً خاصة لضمان أن تعود الفوائد المرتقبة من التكنولوجيا الأحيائية في قطاع الزراعة بالنفع على الجميع سواءً بسواء، وألاّ تقتصر على فئة بعينها أو مجموعةٍ قليلة من المستفيدين٠ ويبرز تقرير "حالة الأغذية والزراعة في العالم عام ٢٠٠٤" على نحو خاص أنه بينما يسع المزارعون والمستهلكون الفقراء في العالم النامي أن يسفيدوا من أية فائدة من ثمار التكنولوجيا الأحيائية إلا أن الواقع يشير إلى أن قليلين من هؤلاء إستفادوا إلى الآن٠ على الرغم من مواصلة قطاع التكنولوجيا الحيوية من نموه غير المنقطع، فثمة أدلةٌ متزايدة على أن الإهمال يمس إحتياجات الفقراء ومشكلاتهم٠

وعلى النقيض من الثورة الخضراء التي جاءت كثمرةً لبرنامجٍ دولي من بحوث القطاع العام بهدف محدد هو إبتكار التقنيات ونقلها إلى العالم النامي "كأصولٍ حرة للملكية العامة"، فأن "ثورة الجينات" هي من بنات أفكار وجهود القطاع الخاص الذي يركز بحكم تعريفه على تطوير منتجاتٍ وتقنياتٍ تستهدف الأسواق التجارية والتوسّع في التسويق٠ وعن ذلك يشير تقرير منظمة الأغذية والزراعة المتخصص إلى أن هذه النزعة تطرح تساؤلاتٍ خاصة عن طبيعة البحوث الجارية وما إذا كان سيستفيد منها الفقراء٠ وما تكشفه الأبحاث العلمية الحديثة هو أن تشمل البحوث المكثفة في مجال التكنولوجيا الحيوية قد جاءت من من جانب القطاع الخاص والعام بأكثر من ٤٠ محصولاً على نطاق العالم أجمع، إلا أن القليل فقط من برامج التكنولوجيا الأحيائية سواء في القطاع العام أو الخاص كانت بصدد الإجابة على المشكلات النوعية لصغار المزارعين الفقراء في العالم النامي٠ وتوضح الدراسة السنوية أن القطاع

الخاص أو العام لم يوجه إستثمارات ذات شأن إلى التقنيات الحيوية في مجالات ما يعرف بإسم 'المحاصيل اليتيمة' مثل اللوبيا والدخان والذرة بوصفها موادٍ غذائية ذات أهمية حاسمة وكمصدر غذائي ومورد معيشي لسكان البلدان الأشد فقراً في العالم٠ بل وحتى المحاصيل الغذائية الرئيسية بالنسبة لفقراء العالم وهي القمح والأرز والذرة البيضاء والبطاطس، لم تزل فى طي الإهمال من جانب هذه البحوث والإستثمارات٠ وفقاً لتقرير منظمة الأغذية والزراعة لعام ٢٠٠٤ وفي الوقت ذاته فأن الدراسات المتعلقة بالخواص ذات الأهمية النوعية في حالة زرّاع العالم الفقراء مثل قدرات تحمّل الجفاف والملوحة ومقاومة الأمراض والمحتوى المُعزز من المغذيات الدقيقة، لم تتلق إهتمام كبير في سياق مثل هذه البحوث٠

ولا شك فى أن التكنولوجيا الحيوية الزراعية تنطوي على قدراتٍ كامنة حقيقية كسلاح في الحرب على الجوع ولكن على نحو ما يكشف تقرير منظمة الأغذية والزراعة "حالة الأغذية والزراعة في العالم ٢٠٠٤"، فثمة الكثير من الأسئلة العالقة التى لم تقدم لها إجاباتٌ بعد٠ فكيف يمكن لمزيدٌ من المزارعين في العديدٍ من البلدان الإستفادة من التكنولوجيات في "ثورة الجينات"؟ وما هي أولويات بحوث التكنولوجيا الحيوية التي قد تشمل الفقراء للأستفادة من فوائدها؟ ومن هو الذي سيتولى تطوير إبتكارات وراثية لصالح أصغر البلدان النامية ذات قدرات التسويق المحدودة التي لا تعد بالكثير فى إستثمارات القطاع الخاص، فضلاً عن كونها من الضعف الإقتصادي بحيث لا تملك تطوير بحوثها الخاصة في هذا المجال؟ وكذلك، كيف يتسنى لنا تيسير عمليات تطوير كائنات مشتركة الجينات ومأمونة العاقبة ونقلها على الصعيد الدولي فضلاً عن تشجيع المشاركة في الملكية الفكرية لتلك الإبتكارات خدمة للمصلحة العامة؟

ومن أهم القضايا الأخرى أيضاً كيف نضمن إمتلاك البلدان ولا سيما تلك المجهدة إقتصادياً في العالم النامي- لنظم التقييم الكافية للمخاطر المحتملة على البيئة وصحة الإنسان وتطبيقها بصورة سليمة لكي تمضي بعمليات جس النبض المطلوبة قبيل إطلاق الكائنات المعدّلة وراثياً للسوق وتقدير نتائجها في المراحل اللاحقة لهذا الإطلاق. مثل هذه التساؤلات وغيرها هي ضمن ما يتناوله تقرير "حالة الأغذية والزراعة في العالم ٢٠٠٤" من قضايا مع طرح بعض النُهُج المقترحة على البلدان المعنية والمجتمع الدولي ككل، كي تشرع في سياق الإستخدام السليم لتقنيات التكنولوجيا الحيوية كأسلحة ناجعة في الحرب على الجوع.

ولا شك لقد تمكنت التكنولوجيا المعلوماتية في وقت قصير من قلب مفاهيم إعتمد عليها البشر لآلاف السنين سعياً وراء تأمين الغذاء والمسكن والدواء والحماية وسواها من متطلبات الحياة اليومية. إلا أنها أفرزت تحديات خطيرة في موازاة تقديمها الحلول. فاليوم مع تحقيق التكنولوجيا الحيوية لنجاحات متزايدة، تبدو الصورة أقل إشراقاً لأن التكنولوجيا التي تساهم في إطعام جياع إفريقيا والفقراء حول العالم ساهمت سابقاً في تطوير صواريخ تحمل رؤوساً بيولوجية قادرة على إبادة البشر تماماً كما تُباد الحشرات. ويجمع الخبراء على مقولة أساسية تتلخص في أن التقدّم في العلوم الحيوية يحمل معه وعوداً هائلة للإنسانية، إلا أن هذا التقدّم سوف يسبب أيضاً أخطاراً حادة على الإنسانية وعلى بيئتنا ما لم يتم التحكم فيه على نحو ملائم أو إذا ما استخدم كأداة للحرب أو نشر الهلع أو غير ذلك من أشكال سوء الإستخدام.

فعالمنا يشهد تطوراً مثيراً ومهماً جداً في مجال أبحاث التكنولوجيا الحيوية وصناعاتها. وأصبحت هذه التكنولوجيا المتقدمة تتطور بسرعة فائقة وتقلق أهل العلم والسياسة والاقتصاد في جميع أنحاء العالم تخوفاً من نتائجها

المحتملة على صحة البشر وتأثيرها المباشر وغير المباشر بالقضاء على التنوع الحيوي بين النباتات والحيوانات في العالم والذي تراكم عبر آلاف السنين ومن المعروف أيضاً أن هناك عدداً محدوداً من شركات التكنولوجيا الحيوية العملاقة التى تسيطر على غالبية المنتجات المعدلة جينياً (وراثياً) بمساعدة الأنظمة المعلوماتية في الأسواق العالمية، ويقول العلماء المختصون "إن آفاق التكنولوجيا الحيوية لا تزال في بداية الطريق وستشمل قريباً المزيد من منتجات الغذاء والدواء٠"

الآثار الإقتصادية للتقنيات الحيوية

Economical Sides of Biotechnology

عند الحديث عن الآثار الإقتصادية لابد من الإشارة إلى أن أي إكتشاف بذاته قد لا يكون له أثره الإقتصادي الكبير بشكل مباشر وسريع؛ ولكن عندما تتحقق تطبيقاته العملية بشكل تجاري يكون له أثره٠ فإكتشاف آلة البخار وتقنية المعلومات والكهرباء جميعها أخذت إنعكاساتها الإقتصادية سنوات عديدة حتى كان لها الأثر الإقتصادي على بريطانيا وغيرها من الدول المستفيدة بشكل مباشر٠

ولقد مرت التقنيات الحيوية بعدة مراحل إقتصادية، فلقد كانت تلك التقانات الأسبق والأسرع في مجال إنتاج الدواء، والذي لاقى قبولاً واسعاً لدى العامة للحاجة الشديدة له وكان له الأثر الاقتصادي الواضح٠ أما في المجال الزراعي، فلقد طرح في الأسواق عدد من المنتجات الزراعية المحورة وراثياً بالتقنية الحيوية وهي بين القبول والرفض على المستوى العالمي مما قلل من أثرها الاقتصادي وإن كان لها رواجها في الولايات المتحدة الأمريكية حيث أنها أكبر منتج للأغذية المحورة وراثياً وذلك لعدم تمييز وكالة الغذاء والدواء

الأمريكية **FDA** بين المحور وغير المحور وراثياً من حيث إجراءات الموافقة.

وتجدر بالأشارة إلى أن الكثير من الشركات العالمية تقوم بإنتاج طرق سريعة وفعالة للكشف عن الأمراض والبكتيريا والأغذية بإستخدام التقنيات الحيوية ففي بعض الأحيان؛ بمجرد حصول باحث على براءة إختراع واحدة يعد الأمر كافٍ لبدء شركة خاصة معتمدة على تسويق هذا المنتج. لعل هذا من الأسباب التي رفعت عدد الشركات في الأعوام الأخيرة بشكل كبير ومذهل، وحتى لا يستهان بالموضوع يجدر الإشارة إلى أن مبيعات شركة من منتج واحد بالتقنية الحيوية (الإنترفيرون) يبلغ ٧٠٠ مليون دولار سنوياً.

كما تنمو الصناعات القائمة على التقنيات الحيوية بشكل سريع منذ عقدين من الزمن وبخاصة في العقد الأخير، وقد تضاعفت قيمة منتجاتها بين عامي ١٩٩٣ و ١٩٩٩ (من ٨ إلى ٢٠٢ بليون دولار أمريكي) كما أن هناك إهتمام كبير يوجه نحو هذه الصناعات سواء في مجال الدواء والزراعة أو المنتجات البيئية خاصة التي في خطوط الإنتاج حالياً. يتوقع أن يكون لهذه المنتجات الأثر القوي على المجتمعات من خلال تحسين نوعية الرعاية الصحية، والغذائية، والبيئية وبالتالي لها التأثير الكبير على الإقتصاد العالمي. نأخذ هنا مثالاً لأثرها على إقتصاد الولايات المتحدة الإمريكية في عام ١٩٩٩م.

- تم توظيف ٤٣٧٤٠٠ موظف منها ١٥٠٨٠٠ وظيفة أستحدثت من قبل شركات التقنيات الحيوية مباشرة بينما الباقي ٢٨٦٦٠٠ وظيفة لشركات مساندة وداعمة بالمواد والخدمات.

- بلغ صافي العائدات الإضافية ٤٧ بليون دولار، مع الأخذ فى الإعتبار أن جميع الشركات لم تبدأ في جني الأرباح. وبلغت حصة شركات التقنية الحيوية عشرين بليون بينما الباقي للشركات المساندة.
- تم إنفاق ١١ بليون في البحث والتطوير بشكل مباشر من قبل شركات القائمة على التقنيات الحيوية؛ ولم يشمل ما تنفقه المراكز البحثية والجامعات.
- بلغ عائد الضرائب الحكومية ١٠بليون دولار.

وجدير بالذكر أن مبيعات التقنية الحيوية عام ١٩٩٣ كان ٥٩ بليون قفز إلى ١٦١ بليون دولار عام ٢٠٠٠ بإجمالي عائد ٢٢٣ مقارنة بمبلغ قيمته ٨١ بليون دولار عام ١٩٩٣، كما أن العائد الإقتصادي يمكن أن يقاس بعدد براءات الإختراع التى منحت للشركات فلقد زادت البراءات إلى٢٥٠٠ براءة إختراع عام ١٩٩٠ إلى عشرة آلاف براءة عام ١٩٩٨ علماً أن الشركات الكبرى تسعى إلى عدم التقدم إلى الحصول على براءات إختراع سعياً إلى السرية القصوى لمنتجاتها وحتى تفوت الفرصة على الآخرين لتطوير التقنية وإمتلاكها. وهذا التسابق المحموم بين الشركات فى رفع عدد الأدوية المنتجة بالتقنية الحيوية من ما يقارب ٤٥ دواء خلال الأعوام ١٩٨٤-١٩٩٤ إلى ٨٢ دواء في عام ٢٠٠٠ في الولايات المتحدة الأمريكية.

إن مثل هذا العائد الإقتصادي للتقنيات الحيوية لم يقتصر على الدول المتقدمة فقط بل إمتد إلى الدول الأقل تقدماً علمياً وإقتصادياً، فكندا وكوريا والصين وإيسلندا لها باع طويل فى المنافسه في مجال التقانات الحيوية. وعلى سبيل المثال، فقد أصدرت الحكومة الإيسلنديه قانوناً يمنع بيع مخزونها الجيني لأي جهة خارج إيسلندا، كما أسست شركة وطنية هدفها التنسيق بين الشركات الأجنبية الراغبة فى دراسة الخريطة الجينية للشعب الإيسلندي وبين الحكومة وذلك إعتمادا على قانون الشرعية القومية الجينية العالمية الذي أصدرته الأمم

المتحدة عام ١٩٩٧م حيث قامت الحكومة بنفسها بإصدار دليل خاص بالخريطة الجينية لشعبها إلى جانب بنك جيني من أجل تصنيع أدوية خاصة بالشعب الأيسلندي من خلال شركات وطنية بالتعاون مع الشريك الأجنبي وذلك من باب الإستثمار الأمثل للموارد الطبيعية المخزونة في شعبها.

وقد دفعت العوائد الإقتصادية التي تجنيها الشركات الكبرى من التقنيات الحيوية إلى نوع من التنافس على المستوى المحلي والدولي حول تسويق المنتجات. وتخضع قدرة أي دولة على المنافسة في هذا السباق العالمي على مدى إمتلاكها للتقنية وتمكنها من تفاصيلها وأدواتها مما دفع كثير من الدول إلى وضع سياسات محددة لها لجان ومجالس وطنية عليا للإستفادة من هذه التقنيات ومخرجاتها العلمية والإقتصادية خلال العقدين الماضيين، وذلك إنطلاقاً من القناعة بأن التقنية الحيوية من مقاييس المنافسة الإقتصادية العالمية. ونتيجة لذلك فإن تسويق منتجات التقنية الحيوية لا يمكن أن تفصل عن غيرها من المنتجات على المستوى العالمي.

أهداف التنمية الألفية

تخفيف الفقر وتحسين الحياة والبيئة لبناء عالم أفضل للجميع

على الرغم من الأشواط الطويلة التي قطعت خلال العقدين الماضيين في مجال التخفيف من آثار الفقر، إلا أن ١٢ مليار شخص ما زالوا يعيشون على أقل من دولار واحد في اليوم، و٢٨ بليون من الأشخاص يعيشون على أقل من ٢ دولار في اليوم. ومن المتوقع أن تشهد السنوات الخمسين القادمة نمواً سكانياً يرفع تعداد سكان العالم من ستة مليارات إلى تسعة مليارات نسمة، علما أن ٩٥ % من هذه الزيادة ستكون في الدول النامية. وأهداف التنمية الألفية التي وافقت عليها ١٨٩ دولة عام ٢٠٠٠ من خلال قمة الألفية التي نظمتها

الأمم المتحدة تدل على مستوى غير مسبوق من التوافق على الإحتياجات اللازمة للتخفيف من الفقر بشكل مستدام٠

وتمثل هذه الأهداف جدول أعمال طموح لكنه قابل للتحقيق بهدف التخفيف من الفقر، وتحسين الحياة والبيئة، وإشراك الدول المتقدمة في تحسين مستوى معيشة البشر في العالم بحلول عام ٢٠١٥ وفي هذا الإطار، تعتقد مجموعة (إيماجن نيشنز) أن أهداف التنمية الألفية ضرورية للأسراع من وتيرة التنمية، وتركيز التوجهات، وقياس التقدم في تحقيق التنمية البشرية حول العالم٠ ومن خلال حشد الشباب في التطلع إلى حياة أفضل لأنفسهم، ولدولهم، تهدف مجموعة إيماجن نيشنز إلى التركيز على رسالة أهداف التنمية الألفية٠ إننا نرى في الشباب حلولاً للمشاكل، ولاعبين نشطين في مساعدة مجتمعاتهم ودولهم لتحقيق أهداف التنمية الألفية٠ إذا ما أردنا تحقيق أهداف التنمية الألفية التي تسعى إلى خفض الفقر المدقع والجوع إلى النصف بحلول عام ٢٠١٥، وبناء عالم أفضل للجميع، فإن الأمر يتطلب أكثر من مجرد الالتزام بتحقيق أهداف التنمية من جانب الحكومات، ومجتمع الأعمال، والمؤسسات العالمية٠ وفي نهاية المطاف، يعتمد تحقيق هذا الهدف على الملايين من المواطنين العاديين في مطالبتهم بمستقبلهم، وعمل الرجال والنساء معاً لتحقيق أهداف التنمية الألفية، والإتحادات وراء رؤى مشتركة٠ وفي العالم النامي حيث أكثر من ٥٠ % من السكان هم ممن دون الخامسة والعشرين من العمر، أصبح من الواضح أنه يتعين على الشباب لعب دور هام في مكافحة الفقر٠ فالشباب لا يمثّلون المستقبل وحسب، لكنهم مصدر غني بمختلف أنواع الحلول الإبتكارية اللازمة لمعالجة بعض المشاكل الأكثر ضغطاً والتي تواجهنا اليوم٠ ويأتي العمل الذي تقوم به مجموعة إيماجن نيشنز ليشكل مثالاً جريئاً وخلاّقاً على ما

يمكن القيام بـه لاستغلال هذه الإمكانيات التـي غالبـاً مـا تبقـى راكدة دون فائـدة تجنى منها٠

وهناك أهداف وغايات مستهدفة تستدعي عمل مجتمع التنمية كله:

- القضاء على الفقر المدقع والجوع٠
- توفير التعليم الابتدائي عالمياً٠
- تعزيز المساواة بين الجنسين وتمكين المرأة٠
- تخفيض نسبة الوفيات بين الأطفال٠
- تحسين صحة الأم٠
- مكافحة فيروس نقص المناعة البشرية المكتسب سواء الإيدز، والملاريا، والأمراض الأخرى٠
- ضمان الإستدامة البيئية٠
- تطوير الشراكات العالمية الهادفة إلى التنمية٠

ويشتمل كل هدف من هذه الأهداف على مستويات مستهدفة ومؤشرات أكثر تحديداً وضعت وصممت لتوفير المقاييس اللازمة لتقييم التقدم الذي تحرزه الدولة المعنية في سعيها لتحقيق هذه الأهداف٠ كما تـأتي هذه الأهداف لتكون بمثابة الإرشادات اللازمة لتطوير السياسات والبرامج المصرية والعالميـة كمـا أنها تشتمل علـى التعـاون بين المؤسسات العالميـة (مثـل برنـامج الأمم المتحـدة الإنمـائي، واليونيـسيف ومنظمـة الـصحة العالميـة والمنظمـة العالميـة للأغذيـة والزراعـة **(FAO)** والـصندوق العـالمي المـالي والبنـك الـدولي ومنظمـة التجـارة العالمية)، والحكومات الوطنية، والبنوك، والشركات، والمجتمع المدني٠ كمـا أن الأهداف المحددة، والمستويات المستهدفة والمؤشرات الخاصـة بالأهداف توفر عرضاً متكاملاً لإحتياجات التنمية البشرية الرئيسية والخصائص المتعلقة

بكل دولة على حدة. كما أن فهم التقدم و/أو التحديات في بلد ما بالنسبة لتحقيق أهداف التنمية الألفية يساعد على إيجاد تقدير متكامل ومتعدد المستويات، ومتسع القواعد للوضع الإنساني والشبابي في الدولة المعنية.

لقد أصبحت العولمة في يومنا هذا من التناقضات الفاضحة. وهناك المزيد من الروابط التي لم يسبق لها مثيل والتي تجمع بين الأسواق والأشخاص والأفكار. غير أنه وفي الوقت ذاته، هناك المزيد من الانقسامات بين الشمال والجنوب وبين الغني والفقير وبين القوي والذي لا حول له ولا قوّة. ولعلّ هذه الانقسامات تتجلّى في الأرقام الإحصائية.

ووفقاً لتقرير التنمية البشرية الصادر عن الأمم المتحدة لعام ٢٠٠٣، أصبح هناك ٥٤ دولة أكثر فقراً الآن مقارنة بما كانت عليه قبل عقد من الزمان في حين أن بعض الدول الأخرى إزدهرت على نحو غير متواز. وتشهد ١٤ دولة وفاة المزيد من الأطفال قبل أن يتمّوا السنوات الخمس الأول من عمرهم. وفي ٢١ دولة أخرى، هناك المزيد من الجوع بين الأشخاص. وفي ٣٤ دولة، انخفض معدّل توقع الحياة. وعلى صعيد العالم، لم يطرأ أي تغييرإيجابى لعشر سنوات حتى الآن على عدد الأشخاص الذين يعيشون في فقر مزمن دون أمن يتوفر لهم يومياً، علماً أن النساء والأطفال هم الأكثر معاناة في هذا الوضع. ولا يستطيع أي شخص بعد الآن أن ينكر بأن الاضطرابات في منطقة ما يمكن أن تنتشر بسرعة لتعمّ المناطق الأخرى وبأشكال عديدة منها الإرهاب، والصراعات المسلّحة، والتراجع البيئي، أو المرض كما يظهر في هذا الإنتشار السريع لمرض الإيدز حول الكرة الأرضية وفي نطاق جيل واحد فقط.

وعلى الرغم من وضوح الروابط والعلاقات، إلا أننا نبدو وكأننا بمعزل عن إيجاد الطرق الكفيلة بمعالجة المشاكل العالمية بطريقة منسّقة حيث يتم

إقتسام الأعباء والمسئوليات٠ ووفقاً لمشروع ٢٠٠٥ للألفية الذي تنفذه الأمم المتحدة، فإن منطقة جنوب الصحراء الأفريقية والتى تشكل المركز الرئيسى للأزمة حيث يستمر غياب الأمن الغذائي وإرتفاع نسبة الفقر المدقع وإرتفاع معدل وفيات الأمهات والأطفال بشكل يبعث على الذهول، والأعداد الكبيرة من الأشخاص الذين يعيشون في الأحياء الفقيرة، وإنتشار عدم تحقيق أهداف التنمية الألفية٠ ومن أجل التغلب على تلك العقبات التنموية لتفعيل دور البحوث والتكنولوجيا قد ساعدت هيئة التنمية المستدامة في منظمة الأغذية والزراعة الدول الأعضاء على وضع ومواصلة نظم البحوث الزراعية الوطنية الفعالة، والتى تتسم بالكفاءة ذات الصلة لإستنباط تكنولوجيات ملائمة وتكييفها ونقلها من أجل تحسين نظم الإنتاج المحسنة والمستدامة في مجالات الزراعة والغابات ومصايد الأسماك٠ كما أنها تساعد نظم البحوث الزراعية الوطنية وشبكاتها على وضع السياسات والإستراتيجيات الملائمة في مجال البحوث الزراعية وتعبئة الموارد المتاحة بطريقة متسقة، وإقامة علاقات وشراكات فيما بين أصحاب الشأن ذوى الصلة على المستويات الوطنية والعالمية والدولية في مجال سلسلة البحوث الزراعية والتكنولوجيا٠

وتوفر هيئة التنمية المستدامة القيادة المهنية في تحديد ومعالجة القضايا الرئيسية ذات الصلة بالتنمية المستدامة، فضلا عن وضع سياسات وإستراتيجيات وبرامج منظمة **FAO** المتكاملة موضع التنفيذ في مجالات إختصاصها٠ كما أنها تتحمل مسؤولية تشمل منظمة **FAO** بأكملها فيما يتعلق بتعزيز قدرات البحوث والتكنولوجيا المؤسسية في البلدان الأعضاء وإقامة الإتصال بين منظمة **FAO** ومراكز الجماعة الإستشارية للبحوث الزراعية الدولية٠ كما حددت العديد من عمليات التحليل والتقييم التي أجرتها منظمة **FAO** وغيرها من المنظمات لأداء نظم البحوث الزراعية الوطنية في البلدان

النامية بصورة مستمرة وفرضت قيودا خطيرة في تخطيط البحوث الزراعية وإدارتها المالية، وفي تنظيم وإدارة المؤسسات البحثية وفي إستراتيجيات نقل التكنولوجيا. وإستنادا إلى هذه النتائج وبالاقتراب مع التطورات في مجال التكنولوجيا الحيوية وفي تكنولوجيات المعلومات والإتصال، وضع برنامج عمل البحوث والتكنولوجيا حول ثلاثة توجهات استراتيجية هي:

- تعزيز المؤسسات بإستخدام المفاهيم والمنهجيات والمواد التدريبية اللازمة لصياغة السياسات، والتخطيط الاستراتيجي والبحوث الزراعية وتطوير التكنولوجيا بما في ذلك التكنولوجيا الحيوية والسلامة الحيوية، وتنظيم وإدارة مؤسسات البحوث الزراعية ونظمها وتقييم الإحتياجات من التكنولوجيا، وتكييفها وتقييمها ونقل التكنولوجيات الملائمة.

٢- تقاسم المعارف ونشر المعلومات في مجالات إستحداث التكنولوجيا وتقييمها ونقلها، بما في ذلك التكنولوجيا الحيوية بإستخدام تكنولوجيات المعلومات والإتصال في وضع قواعد بيانات التكنولوجيا ونظم إدارة المعلومات ومصادر التمويل، وأدلة مؤسسات البحوث الزراعية، وبروتوكولات التكنولوجيا الحيوية والسلامة الحيوية ونشاطات دعم الإتصالات، مثل أدوات الإتصال بنظم البحوث الزراعية الوطنية والمؤتمرات عن طريق البريد الإلكتروني.

٣- بناء الشراكات ودعم البحوث العالمية بما في ذلك توسيع نطاق أصحاب الشأن المعنيين بنظم البحوث الزراعية الوطنية لتيسير الصلات المشتركة بين التخصصات والقطاعات والمؤسسات وترويج التحالفات الاستراتيجية فيما بين المعنيين بالبحوث الزراعية والتكنولوجيا في مجالات القطاعين

العام والخاص وتوفير الدعم للمنظمات العالمية التابعة لنظم البحوث الزراعية الوطنية٠

وأكدت منظمة الأغذية والزراعة للأمم المتحدة أن خبراء العالم في الزراعة والبيئة والإقتصاد قد إتفقوا لأول مرة على برنامج عمل حول التنمية الزراعية المستدامة، للحد من الجوع والفقر والنهوض بالبيئة في البلدان النامية، ودعوا الحكومات الى إعطاء الأولوية بشأن الإنفاق العام على المرافق العامة في المناطق الريفية كالطرق وبناء أخرى٠ ولقد دعا برنامج العمل الذي حمل عنوان إتفاقية بيجينج الجماعية بشأن مستقبل الزراعة والمناطق الريفية في العالم الحكومات الى إقرار الدور الحيوي لقطاع الزراعة والمجتمعات الريفية، في مجمل سياق النمو الاقتصادي والتنمية المستدامة٠ كما دعا الى الإستثمار في قطاعي الزراعة والتنمية الريفية، على إعتبار أن ذلك يمثل مسألة حاسمة لتحسين مستوى المعيشة على الاطلاق، لاسيما وأن غالبية الفقراء والجياع يعيشون في المناطق الريفية٠

إذن فالمطلوب إحراز تقدم علمي بشأن الطاقة البيولوجية وإرساء برنامج عمل لتحقيق تقدم علمي وبصورة عاجلة بشأن تحويل الطاقة البيولوجية الى وقود تجاري لتفادي معادلة الوقود للأغنياء والغذاء للفقراء، ولا سيما وأنه قد إزدادت الآن إمكانيات إستخدام المنتجات الزراعية وبقاياها كمصدر للوقود البيولوجي مع إرتفاع تكاليف الطاقة، لذلك لا بد من إستغلال تلك الامكانيات٠ ويؤكد برنامج العمل من جديد على جدول أعمال الدوحة للتنمية الذي يقر بمتطلبات الأمن الغذائي والتنمية الريفية بالنسبة للبلدان ذات الدخل المنخفض٠ كما يدعو الى إفساح قدر أكبر من المرونة أمام البلدان الفقيرة، كي تواجه الموجات الهامة والمفاجئة من الواردات٠

أيضاً ومن جانب آخرً ضرورة بناء قاعدة علمية زراعية قوية مع الأخذ بعين الإعتبار المشاكل الخطيرة القائمة في جنوب الصحراء الكبرى، وهناك اتفاقيات تدعو البلدان الأفريقية الى بناء قاعدة زراعية علمية قوية تضمن الأمن الغذائي لشعوبها حيث أن الزراعة بالنسبة للجزء الأعظم من أفريقيا ستكون بمثابة المحرك الأساسى للنمو الإقتصادي٠ وقد كشفت تجربة كل من الهند والبرازيل والصين عن أن الأمر يتطلب بعض الوقت لبناء رأس المال البشري والمؤسسات العلمية الفاعلة٠ ويُشير برنامج العمل أيضاً الى أن المناطق الريفية الهامشية والشعوب المهمشة التي تعتمد على الزراعة في كسب رزقها، لم تتلق نصيبها العادل من الموارد العامة٠ وإستنادا الى اتفاقية بيجينغ فان إدخال التحسينات على الإنتاجية الزراعية وتأمين مجالات أوسع أمام الأسواق يُعد أمراً جوهرياً إذا ما أريد تحسين مستوى معيشة هذه الشعوب٠ ويدعو برنامج العمل الى وضع إستراتيجية ذات مسارين، الأول: الإستثمار لخلق فرص كسب الدخل، والثاني: إستثمار شبكات الضمان الإجتماعي بما يعزز مستقبل الشعوب المهمشة نحو الأفضل٠

ب- الأبعاد الأخلاقية للتقنية الحيوية

Biotechnology and Infrastructure Ethics

في شهر سبتمبر من عام ١٩٩٩ دعت جامعة هارفارد إلى مؤتمر دولي حول التقنية الحيوية والإقتصاد العالمي، وكان من إبرز النتائج المستخلصة من المؤتمر هو التخوف الشعبي من آثار بعض التقنيات الحيوية خاصة على الجانب الزراعي نظراً لحداثة التجارب في هذا الجانب وعدم خضوعها للدراسة الدقيقة للآثار بعيدة المدى لتلك التقنية٠ ومن خلال المؤتمر وجد أن هناك جدل حول بعض التقنيات الحيوية نظراً لغياب المراجعات الدقيقة والمتوازنة حول الآثار البيئية والصحية لها٠ إن مثل هذه المراجعات لابد أن

تمتد إلى غيرها من التشريعات كحقوق الملكية الفكرية وإنعكاسات التقنية على الدول النامية. مثل هذه المراجعات النزيهة والشفافة يمكن أن تبني الثقة بين المتحمسين والمتخوفين من تلك التقنية. ومن القضايا الشائكة في هذا الإطار:

- مدى أمان الأغذية المحورة وراثياً على المدى البعيد.
- أبحاث الخلايا الجذعية خاصة بإستخدام الأجنة.
- حماية الحقوق لمكتشفي جينات محددة بشرية أو غير بشرية.
- حقوق العامة في الدخول إلى قواعد بيانات المادة الوراثية للجين البشري.
- العلاج الجيني.
- الإنسال (أو ما يسمى الإستنساخ).

ويمكن القول أن الإستفادة من التقانات الحيوية قد يقف أمامها بعض العوائق من إبرزها التكلفة العالية نسبياً لتأسيس المعامل والتجهيزات مع الحاجة إلى قضاء وقت ليس بالقصير للوصول إلى مرحلة جني الأرباح. كما أن القيود التي تفرض من الدول مالكة التقنية أمام الدول النامية (لأسباب إقتصادية وسياسية) يؤخر إنتقال التقنية إلى الدول النامية. وعدم تدريس المواد الأساسية للتقنية الحيوية في المدارس الثانوية والجامعات أحد أهم العوائق وهذا بدوره يؤدي إلى عدم كفاية الكوادر العلمية والفنية المؤهلة. إن عدم توافر الدراسات الكافية عن الموارد المتاحة وضعف عنصر المخاطرة لدى المستثمر يعيق إستثمار التقانات الحيوية. وأخيراً عدم الإدراك الشعبي والرسمي (الوعي الإقتصادي) يقف أحياناً حائلاً أمام التقنية.

" إن التقنية الحيوية خيار ممكن الآن وقد لا يكون ممكناً في المستقبل "

قاموس مصطلحات التقنية الحيوية

Aerobe; A microorganism that grows in the presence of oxygen.

Agarose gel electrophoresis; A matrix composed of a highly purified form of agar that is used to separate larger DNA and RNA molecules ranging 20,000 nucleotides

Alleles; Alternate forms of a gene or DNA sequence, which occur on either of two homologous chromosomes in a diploid organism.

Ampicillin; (beta-lactamase); An antibiotic derived from penicillin that prevents bacterial growth by interfering with cell wall synthesis

Amplify; To increase the number of copies of a DNA sequence, in vivo by inserting into a cloning vector that replicates within a host cell, or in vitro by polymerase chain reaction (PCR)

Anaerobe; An organism that grows in the absence of oxygen

Anneal; The pairing of complementary DNA or RNA sequences, via hydrogen bonding, to form a double-stranded polynucleotide Most often used to describe the binding of a short primer or probe

Antibiotic; A class of natural and synthetic compounds that inhibit the growth of or kill other microorganisms

Antibiotic resistance; The ability of a microorganism to produce a protein that disables an antibiotic or prevents transport of the antibiotic into the cell

Antibody; An immunoglobulin protein produced by B-lymphocytes of the immune system that binds to a specific antigen molecule

Anticodon; A nucleotide base triplet in a transfer RNA molecule that pairs with a complementary base triplet, or codon, in a messenger RNA molecule

Antigen; Any foreign substance, such as a virus, bacterium, or protein that elicits an immune response by stimulating the production of antibodies

Antigenic determinant; A surface feature of a microorganism or macromolecule, such as a glycoprotein, that elicits an immune response

Antigenic switching; The altering of a microorganism's surface antigens through genetic rearrangement, to elude detection by the host's immune system

***Antimicrobial agent*;** Any chemical or biological agent that harms the growth of microorganisms

Autosome; A chromosome that is not involved in sex determination

beta-DNA; The normal form of DNA found in biological systems, which exists as a right-handed helix

Bacillus; A rod-shaped bacterium

Bacillus thuringiensis (Bt); A bacterium that kills insects; a major component of the microbial pesticide industry

Backcross Crossing an organism with one of its parent organisms

Bacteriophage (phage or phage particle); A virus that infects bacteria Altered forms are used as vectors for cloning DNA

Bacterium; A single-celled, microscopic prokaryotic organism: a single cell organism without a distinct nucleus

Base pair (bp); A pair of complementary nitrogenous bases in a DNA molecule--adenine-thymine and guanine-cytosine Also, the unit of measurement for DNA sequences

Bioenrichment; Adding nutrients or oxygen to increase microbial breakdown of pollutants

Biologics; Agents, such as vaccines, that gives immunity to diseases or harmful biotic stresses

Biomass; The total dry weight of all organisms in a particular sample, population, or area

Bioremediation; The use of microorganisms to remedy environmental problems

Biotechnology; The scientific manipulation of living organisms, especially at the molecular genetic level, to

produce useful products Gene splicing and use of recombinant DNA (rDNA) are major techniques used

Biotic stress; Living organisms which can harm plants ، such as viruses, fungi, and bacteria, and harmful insects

Carcinogen; A substance that induces cancer

Catalyst; A substance that promotes a chemical reaction by lowering the activation energy of a chemical reaction, but which itself remains unaltered at the end of the reaction

Cation; A positively charged ion

cDNA; DNA synthesized from an RNA template using reverse transcriptase

cDNA library; A library composed of complementary copies of cellular mRNAs

Cellular oncogene (proto-oncogene); A normal gene that when mutated or improperly expressed contributes to the development of cancer

Centers of origin; Usually the location in the world where the oldest cultivation of a particular crop has been identified

Central dogma; Francis Crick's seminal concept that in nature genetic information generally flows from DNA to RNA to protein

Centrifugation; Separating molecules by size or density using centrifugal forces generated by a spinning rotor G forces of several hundred thousand times gravity are generated in ultracentrifugation

Centromere; The central portion of the chromosome to which the spindle fibers attach during mitotic and meiotic division

Chromatid; Each of the two daughter strands of a duplicated chromosome joined at the centromere during mitosis and meiosis

Chromosome; A single DNA molecule, a tightly coiled strant of DNA, condensed into a compact structure in vivo by complexing with accessory histones or histone-like proteins Chromosomes exist in pairs in higher eukaryotes

Chromosome walking; Working from a flanking DNA marker, overlapping clones are successively identified that span a chromosomal region of interest

Clone; An exact genetic replica of a specific gene or an entire organism

Cloning; The mitotic division of a progenitor cell to give rise to a population of identical daughter cells or clones

Coat protein (capsid); The coating of a protein that enclosed the nucleic acid core of a virus

Codon; A group of three nucleotides that specifies addition of one of the 20 amino acids during translation of an mRNA into a polypeptide Strings of codons form genes and strings of genes form chromosomes

Coenzyme (cofactor); An organic molecule, such as a vitamin, that binds to an enzyme and is required for its catalytic activity

Colony A group of identical cells (clones); derived from a single progenitor cell

Competency; An ephemeral state, induced by treatment with cold cations, during which bacterial cells are capable of uptaking foreign DNA

Complementary DNA or RNA; The matching strand of a DNA or RNA molecule to which its bases pair

Complementary nucleotides; Members of the pairs adenine-thymine, adenine-uracil, and guaninecytosine that have the ability to hydrogen bond to one another

Conjugation; The joining of two bacteria cells when genetic material is transferred from one bacterium to another

Constitutive promoter; An unregulated promoter that allows for continual transcription of its associated gene

Cross-hybridization The hydrogen bonding of a single-stranded DNA sequence that is partially but not entirely complementary to a singlestranded substrate often, this involves hybridizing a DNA probe for a specific DNA

sequence to the homologous sequences of different species

Crossing-over; The exchange of DNA sequences between chromatids of homologous chromosomes during meiosis

Culture; A particular kind of organism growing in a laboratory medium

Cytogenetics; Study that relates the appearance and behavior of chromosomes to genetic phenomenon

Dalton; A unit of measurement equal to the mass of a hydrogen atom, 167 x 10E-24 gram/L (Avogadro's number)

Death phase; The final growth phase, during which nutrients have been depleted and cell number decreases

Denature; To induce structural alterations that disrupt the biological activity of a molecule Often refers to breaking hydrogen bonds between base pairs in double-stranded nucleic acid molecules to produce in single-stranded polynucleotides or altering the secondary and tertiary structure of a protein, destroying its activity

Diabetes; A disease associated with the absence or reduced levels of insulin, a hormone essential for the transport of glucose to cells

Dideoxynucleotide (didN); A deoxynucleotide that lacks a 3' hydroxyl group, and is thus unable to form a 3'-5' phosphodiester bond necessary for chain elongation

Dideoxynucleotides are used in DNA sequencing and the treatment of viral diseases

Digest; To cut DNA molecules with one or more restriction endonucleases

Diploid cell; A cell which contains two copies of each chromosome

Directional cloning; DNA insert and vector molecules are digested with two different restriction enzymes to create noncomplementary sticky ends at either end of each restriction fragment This allows the insert to be ligated to the vector in a specific orientation and prevents the vector from recircularizing

DNA (Deoxyribonucleic acid); An organic acid and polymer composed of four nitrogenous bases--adenine, thymine, cytosine, and guanine linked via intervening units of phosphate and the pentose sugar deoxyribose DNA is the genetic material of most organisms and usually exists as a double-stranded molecule in which two antiparallel strands are held together by hydrogen bonds between adeninethymine and cytosine-guanine

DNA diagnosis; The use of DNA polymorphisms to detect the presence of a disease gene

DNA fingerprint; The unique pattern of DNA fragments identified by Southern hybridization (using a probe that binds to a polymorphic region of DNA) or by

polymerase chain reaction (using primers flanking the polymorphic region)

DNA polymorphism; One of two or more alteRNAte forms (alleles) of a chromosomal locus that differ in nucleotide sequence or have variable numbers of repeated nucleotide units

DNA sequencing; Procedures for determining the nucleotide sequence of a DNA fragment

Dominant gene; A gene whose phenotype is when it is present in a single copy

Double helix; Describes the coiling of the antiparallel strands of the DNA molecule, resembling a spiral staircase in which the paired bases form the steps and the sugar-phosphate backbones form the rails

Double-stranded complementary DNA (dscDNA); A duplex DNA molecule copied from a cDNA template

Downstream; The region extending in a 3' direction from a gene

dscDNA; double-stranded complementary DNA

Duplex DNA; Double-stranded DNA

Electrophoresis; The technique of separating charged molecules in a matrix to which is applied an electrical field

Electroporation; A method for transforrning DNA, especially useful for plant cells, in which high voltage

pulses of electricity are used to open pores in cell membranes, through which foreign DNA can pass

Environmental Protection Agency (EPA); The US regulatory agency for Biotechnology of microbes The major laws under which the agency has regulatory powers are the Federal Insecticide, Fungicide, and Rodenticide Act (FIFRA); and the Toxic Substances Control Act (TSCA)

Enzymes; Proteins that control the various steps in all chemical reactions

Escherichia coli; A commensal bacterium inhabiting the human colon that is widely used in biology, both as a simple model of cell biochemical function and as a host for molecular cloning experiments

Ethidium bromide; A fluorescent dye used to stain DNA and RNA The dye fluoresces when exposed to UV light

Eukaryote; An organism whose cells possess a nucleus and other membrane-bound vesicles, including all members of the protist, fungi, plant and animal kingdoms; and excluding viruses, bacteria, and blue-green algae

Evolution; The long-term process through which a population of organisms accumulats genetic changes that enable its members to successfully adapt to environmental conditions and to better exploit food resources

Exon; A DNA sequence that is ultimately translated into protein

Express; To translate a gene's message into a molecular product

Flanking region; The DNA sequences extending on either side of a specific locus or gene

Food and Drug Administration (FDA); The US agency responsible for regulation of Biotechnology food products The major laws under which the agency has regulatory powers include the Food, Drug, and Cosmetic Act; and the Public Health Service Act

Fusion gene; A hybrid gene created by joining portions of two different genes (to produce a new protein) or by joining a gene to a different promoter (to alter or regulate gene transcription)

Gene; A locus on a chromosome that encodes a specific protein or several related proteins it is considered the functional unit of heredity

Gene amplification; The presence of multiple genes Amplification is one mechanism through which proto-oncogenes are activated in malignant cells

Gene cloning; The process of synthesizing multiple copies of a particular DNA sequence using a bacteria cell or another organism as a host

Gene expression; The process of producing a protein from its DNA- and mRNA-coding sequences

Gene flow; The exchange of genes between different but (usually) related populations

Gene frequency; The percentage of a given allele in a population of organisms

Gene insertion; The addition of one or more copies of a normal gene into a defective chromosome

Gene linkage; The hereditary association of genes located on the same chromosome

Gene modification; The chemical repair of a gene's defective DNA sequence

Gene pool; The totality of all alleles of all genes of all individuals in a particular population

Gene splicing; Combining genes from different organisms into one organism

Gene translocation; The movement of a gene fragment from one chromosomal location to another, which often alters or abolishes expression

Genetic code; The three-letter code that translates nucleic acid sequence into protein sequence The relationships between the nucleotide base-pair triplets of a messenger RNA molecule and the 20 amino acids that are the building blocks of proteins

Genetic disease; A disease that has its origin in changes to the genetic material, DNA Usually refers to diseases that are inherited in a Mendelian fashion, although noninherited forms of cancer also result from DNA mutation

Genetic drift; Random variation in gene frequency from one generation to another

Genetic engineering; The manipulation of an organism's genetic endowment by introducing or eliminating specific genes through modern molecular biology techniques A broad definition of genetic engineering also includes selective breeding and other means of artificial selection

Genetic linkage map; A linear map of the relative positions of genes along a chromosome Distances are established by linkage analysis, which determines the frequency at which two gene loci become separated during chromosomal recombination

Genetic marker; A gene or group of genes used to "mark" or track the action of microbes

Genome; The genetic complement contained in the chromosomes of a given organism, usually the haploid chromosome state

Genomic library; A library composed of fragments of genomic DNA

Genotype; The structure of DNA that determines the expression of a trait

Genus; A category including closely related species interbreeding between organisms within the same category can occur

GEO; Genetically engineered organism

Germ cell; Reproductive cell

GMO Genetically modified organism

Growth factor; A serum protein that stimulates cell division when it binds to its cell-surface receptor

Growth phase (curve); The characteristic periods in the growth of a bacterial culture, as indicated by the shape of a graph of viable cell number versus time

Haploid cell; A cell containing only one set, or half the usual (diploid) number, of chromosomes

Herbicide; Any substance that is toxic to plants; usually used to kill specific unwanted plants

Heterochromatin; Dark-stained regions of chromosomes thought to be for the most part genetically inactive

Heteroduplex; A double-stranded DNA molecule or DNA-RNA hybrid, where each strand is of a different origin

Heterogeneous nuclear RNA (hnRNA); The name originally given to large RNA molecules found in the

nucleus, which are now known to be unedited mRNA transcripts, or pre-mRNAs

Homologous chromosomes; Chromosomes that have the same linear arrangement of genes a pair of matching chromosomes in a diploid organism

Homologous recombination; The exchange of DNA fragments between two DNA molecules or chromatids of paired chromosomes (during crossing over) at the site of identical nucleotide sequences

Host An organism that contains another organism

Human Genome Project; A project coordinated by the National Institutes of Health (NIH) and the Department of Energy (DOE) to determine the entire nucleotide sequence of the human chromosomes

Hybrid; The offspring of two parents differing in at least one genetic characteristic (trait) Also, a heteroduplex DNA or DNA-RNA molecule

Hybridization; The hydrogen bonding of complementary DNA and/or RNA sequences to form a duplex molecule

Hydrogen bond; A relatively weak bond formed between a hydrogen atom (which is covalently bound to a nitrogen or oxygen atom) and a nitrogen or oxygen with an unshared electron pair

In situ; Refers to performing assays or manipulations with intact tissues

Intergenic regions; DNA sequences located between genes that comprise a large percentage of the human genome with no known function

Intron; A noncoding DNA sequence within a gene that is initially transcribed into messenger RNA but is later snipped out

In vivo; Refers to biological processes that take place within a living organism or cell

Ion; A charged particle

Kanamycin; An antibiotic of the aminoglycoside family that poisons translation by binding to the ribosomes

Lag phase; The initial growth phase, during which cell number remains relatively constant prior to rapid growth

Library; A collection of cells, usually bacteria or yeast, that have been transformed with recombinant vectors carrying DNA inserts from a single species

Ligase (DNA ligase); An enzyme that catalyzes a condensation reaction that links two DNA molecules via the formation of a phosphodiester bond between the 3' hydroxyl and 5' phosphate of adjacent nucleotides

Ligate; The process of joining two or more DNA fragments on a chromosome

Liposomes Membrane-bound vesicles constructed in the laboratory to transport biological molecules

Locus (plural = loci); A specific location or site on a chromosome

Lysis The destruction of the cell membrane

Mapping; Determining the physical location of a gene or genetic marker on a chromosome

Megabase cloning; The cloning of very large DNA fragments

Messenger RNA (mRNA); The class of RNA molecules that copies the genetic information from DNA, in the nucleus, and carries it to ribosomes, in the cytoplasm, where it is translated into protein

Metabolism; The biochemical processes that sustain a living cell or organism

Microbial mats (biofilms); Layered groups or communities of microbial populations

Microinjection; A means to introduce a solution of DNA, protein, or other soluble material into a cell using a fine microcapillary pipet

Molecular biology; The study of the biochemical and molecular interactions within living cells

Molecular cloning; The biological amplification of a specific DNA sequence through mitotic division of a host cell into which it has been transformed or transfected

Molecular genetics; The study of the flow and regulation of genetic information between DNA, RNA, and protein molecules

Monoclonal antibodies; Immunoglobulin molecules of single- epitope specificity that are secreted by a clone of B cells

Monoculture; The agricultural practice of cultivating crops consisting of genetically similar organisms

Mutagen; Any agent or process that can cause mutations

Mutation; An alteration in DNA structure or sequence of a gene

Nitrocellulose; A membrane used to immobilize DNA, RNA, or protein, which can then be probed with a labeled sequence or antibody

Nitrogenous bases; The purines (adenine and guanine) and pyrimidines (thymine, cytosine, and uracil) that comprise DNA and RNA molecules

Nuclease; A class of enzymes that degrades DNA and/or RNA molecules by cleaving the phosphodiester bonds that link adjacent nucleotides In deoxyribonuclease (DNase), the substrate is DNA In endonuclease, it cleaves at RNA sites in the substrate molecule Exonuclease progressively cleaves from the end of the substrate molecule In ribonuclease (RNAse), the

substrate is RNA In the S1 nuclease, the substrate is single-stranded DNA or RNA

Nucleic acids; The two nucleic acids, deoxyribonucleic acid (DNA) and ribonucleic acid (RNA), are made up of long chains of molecules called nucleotides

Nucleoside; A building block of DNA and RNA, consisting of a nitrogenous base linked to a five carbon sugar

Nucleoside analog; A synthetic molecule that resembles a naturally occuring nucleoside, but that lacks a bond site needed to link it to an adjacent nucleotide

Nucleotide; A building block of DNA and RNA, consisting of a nitrogenous base, a five-carbon sugar, and a phosphate group Together, the nucleotides form codons, which when strung together form genes, which in turn link to form chromosomes **Nucleus** The membrane-bound region of a eukaryotic cell that contains the chromosomes

Oligonucleotide; A DNA polymer composed of only a few nucleotides

Open reading frame; A long DNA sequence that is uninterrupted by a stop codon and encodes part or all of a protein

Operator; A prokaryotic regulatory element that interacts with a repressor to control the transcription of adjacent structural genes

Origin of replication; The nucleotide sequence at which DNA synthesis is initiated

Overlapping reading frames; Start codons in different reading frames generate different polypeptides from the same DNA sequence

Pathogen; Organism which can cause disease in another organism

Persistence; Ability of an organism to remain in a particular setting for a period of time after it is introduced

Phenotype; The observable characteristics of an organism, the expression of gene alleles (genotype) as an observable physical or biochemical trait

Phosphatase; An enzyme that hydrolyzes esters of phosphoric acid, removing a phosphate group

Phosphodiester bond; A bond in which a phosphate group joins adjacent carbons through ester linkages a condensation reaction between adjacent nucleotides results in a phosphodiester bond between 3' and 5' carbons in DNA and RNA

Phospholipid; A class of lipid molecules in which a phosphate group is linked to glycerol and two fatty acyl groups A chief component of biological membranes

Phosphorylation; The addition of a phosphate group to a compound

Physical map A map showing physical locations on a DNA molecule, such as restriction sites, and sequence-tagged sites

Plasmid; A circular DNA molecule, capable of autonomous replication, which typically carries one or more genes encoding antibiotic resistance proteins Plasmids can transfer genes between bacteria and are important tools of transformation for genetic engineers

Point mutation; A change in a single base pair of a DNA sequence in a gene

Poly(A) polymerase; Catalyzes the addition of adenine residues to the 3' end of pre-mRNAs to form the poly (A) tail

Polyacrylamide gel electrophoresis Electrophoresis through a matrix composed of a synthetic polymer, used to separate proteins, small DNA, or RNA molecules of up to 1000 nucleotides Used in DNA sequencing

Polyclonal antibodies; A mixture of immunoglobulin molecules secreted against a specific antigen, each recognizing a different epitope

Polymer; A molecule composed of repeated subunits

Polymerase (DNA); Synthesizes a double-stranded DNA molecule using a primer and DNA as a template

Polymorphisms; Variant forms of a particular gene that occur simultaneously in a population

Polynucleotide; A DNA polymer composed of multiple nucleotides

Polymerase chain reaction (PCR); A procedure that enzymatically amplifies a DNA polymerase

Polypeptide (protein); A polymer composed of multiple amino acid units linked by peptide bonds

Polyploid; A multiple of the haploid chromosome number that results from chromosome replication without nuclear division

Population; A local group of organisms belonging to the same species and capable of interbreeding

Probe; A sequence of DNA or RNA, labeled or marked with a radioactive isotope, used to detect the presence of complementary nucleotide sequences

Prokaryote; A bacterial cell lacking a true nucleus; its DNA is usually in one long strand

Primer; A short DNA or RNA fragment annealed to single-stranded DNA, from which DNA polymerase extends a new DNA strand to produce a duplex molecule

Probe; A single-stranded DNA that has been radioactively labeled and is used to identify complementary sequences in genes or DNA fragments of interest

Promoter; A region of DNA extending 150-300 bp upstream from the transcription start site that contains binding sites for RNA polymerase and a number of

proteins that regulate the rate of transcription of the adjacent gene

Protease; An enzyme that cleaves peptide bonds that link amino acids in protein molecules

Protein; A polymer of amino acids linked via peptide bonds and which may be composed of two or more polypeptide chains

Reading frame; A series of triplet codons beginning from a specific nucleotide Depending on where one begins; each DNA strand contains three different reading frames

Recessive gene; Characterized as having a phenotype expressed only when both copies of the gene are mutated or missing

Recognition sequence (site); A nucleotide sequence-- composed typically of 4, 6, or 8 nucleotides that is recognized by a restriction endonuclease Type II enzyrnes cut (and their corresponding modification enzymes methylate) within or very near the recognition sequence

Recombinant; A cell that results from recombination of genes

Recombinant DNA; The process of cutting and recombining DNA fragments from different sources as a means to isolate genes or to alter their structure and function

Recombination frequency; The frequency at which crossing over occurs between two chromosomal loci--the probability that two loci will become unlinked during meiosis

Regulatory gene; A gene whose protein controls the activity of other genes or metabolic pathways

Renature; The reannealing (hydrogen bonding) of single-stranded DNA and/or RNA to form a duplex molecule

Replicon; A chromosomal region containing the DNA sequences necessary to initiate DNA replication processes

Repressor; A DNA-binding protein in prokaryotes that blocks gene transcription by binding to the operator

Restriction endonuclease (enzyme); A class of endonucleases that cleaves DNA after recognizing a specific sequence, such as BamH1 (GGATCC), *Eco*RI (GAATTC), and *Hin*dIII (AAGCTT) Type I Cuts nonspecifically a distance greater than 1000 bp from its recognition sequence and contains both restriction and methylation activities Type II Cuts at or near a short, and often symmetrical, recognition sequence A separate enzyme methylates the same recognition sequence Type III Cuts 24-26 bp downstream from a short, asymmetrical recognition sequence Requires ATP and contains both restriction and methylation activities

Restriction-fragment-length polymorphism (RFLP); Differences in nucleotide sequence between alleles at a chromosomal locus result in restriction fragments of varying lengths detected by Southern analysis

RFLP Restriction-fragment-length polymorphism

Ribosomal RNA (rRNA); The RNA component of the ribosome

Ribosome; Cellular organelle that is the site of protein synthesis during translation

Ribosome-binding site; The region of an mRNA molecule that binds the ribosome to initiate translation

RNA (ribonucleic acid); An organic acid composed of re-peating nucleotide units of adenine, guanine, cytosine, and uracil, whose ribose components are linked by phosphodiester bonds

RNA polymerase; Transcribes RNA from a DNA template

Satellite RNA (viroids); A small, self-splicing RNA molecule that accompanies several plant viruses, including tobacco ringspot virus

Selectable marker; A gene whose expression allows one to identify cells that have been transforrned or transfected with a vector containing the marker gene

Semiconservative replication; During DNA duplication, each strand of a parent DNA molecule is a template for the synthesis of its new complementary strand Thus, one

half of a preexisting DNA molecule is conserved during each round of replication

Sequence hypothesis; Francis Crick's seminal concept that genetic information exists as a linear DNA code; DNA and protein sequence are colinear

Small nuclear RNA (snRNA); Short RNA transcripts of 100-300 bp that associate with proteins to form small nuclear ribonucleoprotein particles (snRNPs), which participate in RNA processing

Somatic cell; Any nongerm cell that composes the body of an organism and which possesses a set of multiploid chromosomes (diploid in most organisms)

Somatic cell gene therapy; The repair or replacement of a defective gene within somatic tissue

Southern hybridization (Southern blotting); A procedure in which DNA restriction fragments are transferred from an agarose gel to a nitrocellulose filter, where the denatured DNA is then hybridized to a radioactive probe (blotting)

Species; A classification of related organisms that can freely interbreed

Spore; A form taken by certain microbes that enables them to exist in a dormant stage It is an asexual reproductive cell

Stationary phase; The plateau of the growth curve after log growth, during which cell number remains constant new cells are produced at the same rate as older cells die

Sticky end; A protruding, single-stranded nucleotide se quence produced when a restriction endonuclease cleaves off center in its recognition sequence

Stringency; Reaction conditions notably temperature, salt, and pH that dictate the annealing of single-stranded DNA/DNA, DNA/RNA, and RNA/RNA hybrids At high stringency, duplexes form only between strands with perfect one-to-one complementarity; lower stringency allows annealing between strands with some degree of mismatch between bases

Subcloning; The process of tranferring a cloned DNA fragment from one vector to another

Supergene; A group of neighboring genes on a chromosome that tends to be inherited together and sometimes are functionally related

Taq polymerase; A heat-stable DNA polymerase isolated from the bacterium Therrnus aquaticus, used in PCR

TATA box; An adenine- and thymine-rich promoter sequence located 25-30 bp upstream of a gene, which is the binding site of RNA polymerase

T-DNA (transfer DNA, tumor-DNA); The transforming region of DNA in the Ti plasmid of Agrobacterium tumefaciens

Telomere; The end of a chromosome

Template; An RNA or single-stranded DNA molecule upon which a complementary nucleotide strand is synthesized

Termination codon; Any of three mRNA sequences (UGA, UAG, UAA) that do not code for an amino acid and thus signal the end of protein synthesis Also known as stop codon

Terminator region; A DNA sequence that signals the end of transcription

Tetracycline; An antibiotic that interferes with protein synthesis in prokaryotes

Thymidine kinase (tk); An enzyme that allows a cell to utilize an alteRNAte metabolic pathway for incorporating thymidine into DNA Used as a selectable marker to identify transfected eukaryotic cells

Transcription; The process of creating a complementary RNA copy of DNA

Transduction; The transfer of DNA sequences from one bacterium to another via lysogenic infection by a bacteriophage (transducing phage)

Transformant; In prokaryotes, a cell that has been genetically altered through the uptake of foreign DNA In

higher eukaryotes, a cultured cell that has acquired a malignant phenotype

Transformation; In prokaryotes, the natural or induced uptake and expression of a foreign DNA sequence--typically a recombinant plasmid in experimental systems In higher eukaryotes, the conversion of cultured cells to a malignant phenotype--typically through infection by a tumor virus or transfection with an oncogene

Transformation efficiency; The number of bacterial cells that uptake and express plasmid DNA divided by the mass of plasmid used (in transformants/microgram)

Transforming oncogene; A gene that upon transfection converts a previously immortalized cell to the malignant phenotype

Transgenic An organism in which a foreign DNA gene (a transgene) is incorporated into its genome early in de- velopment The transgene is present in both somatic and germ cells, is expressed in one or more tissues, and is inherited by offspring in a Mendelian fashion

Transgenic animal; Genetically enginnered animal or offspring of genetically engineered animals The transgenic animal usually contains material from at lease one unrelated organism, such as from a virus, plant, or other animal

Transgenic plant; Genetically engineered plant or offspring of genetically engineered plants The transgenic plant

usually contains material from at least one unrelated organisms, such as from a virus, animal, or other plant

Translation; The process of converting the genetic information of an mRNA on ribosomes into a polypeptide Transfer RNA molecules carry the appropriate amino acids to the ribosome, where they are joined by peptide bonds

Translocation; The movement or reciprocal exchange of large-chromosomal segments, typically between two different chromosomes

Transposition; The movement of a DNA segment within the genome of an organism

Transposon; (transposable, or movable genetic element) A relatively small DNA segment that has the ability to move from one chromosomal position to another

tRNA (transfer RNA); The class of small RNA molecules that transfer amino acids to the ribosome during protein synthesis

Trypsin; A proteolytic enzyme that hydrolyzes peptide bonds on the carboxyl side of the amino acids arginine and lysine

Upstream; The region extending in a 5' direction from a gene

Variation; Differences in the frequency of genes and traits among individual organisms within a population

Vector; An autonomously replicating DNA molecule into which foreign DNA fragments are inserted and then propagated in a host cell Also living carriers of genetic material (such as pollen) from plant to plant, such as insects

Viral oncogene; A viral gene that contributes to malig-nancies in vertebrate hosts

Viroid; A plant pathogen that consists of a naked RNA molecule of approximately 250-350 nucleotides, whose extensive base pairing results in a nearly correct double helix

Virulence; The degree of ability of an organism to cause disease

Virus; An infectious particle composed of a protein capsule and a nucleic acid core, which is dependent on a host organism for replication A double-stranded DNA copy of an RNA virus genome that is integrated into the host chromosome during lysogenic infection

X-ray crystallography; The diffraction pattern of X-rays passing through a pure crystal of a substance

Z-DNA; A region of DNA that is "flipped" into a lefthanded helix, characterized by alteRNAting purines and pyrimidines, and which may be the target of a DNA-binding protein

المراجع

المراجع

١. المراجع العربية:

التقرير الأقتصادى العربى الموحد ١٩٩٤ ٠- الأمانة العامة لجامعة الدول العربية – الصندوق العربى للأنماء الأقتصادى والإجتماعى – صندوق النقل العربى – منظمة الأقطار العربية المصدرة للبترول٠

عبد العال، زيدان السيد، ١٩٩٦ ٠ التكنولوجيا الحيوية وآفاق القرن الحادى والعشرين لحماية البيئة – التنمية الزراعية المتواصلة وسد الفجوة الغذائية فى الوطن العربى٠ منشأة المعارف٠ الأسكندرية٠ ٣١١ صفحة٠

موسى، حمدى عبد العزيز و وجدى عبد الفتاح سواحل٠ ٢٠٠٠ .موسوعة الهندسة الوراثية المستدامة٠ الصحيفة الزراعية٠ وزارة الزراعة٠ المجلد ٥٩ أبريل ٢٠٠٤ .

وجيه، السيد السيد ٠ ٢٠٠٤. التكنولوجيا الحيوية الأسس والتطبيقات٠ كلية الزراعة، جامعة الأسكندرية٠ ٢٠٠ صفحة٠

يونس، حسن محمود، ٢٠٠٦ ٠ التكنولوجيا الحيوية الأسس والتطبيقات٠ كلية الزراعة جامعة الأسكندرية ٢٠٠ صفحة٠

٢. المراجع الأجنبية:

Anteb, E. and D. Fishlock (1996). Biotechnology; Strategies for life. The MIT Press Edition, Cambridge, Massachutts, London, England. 386 p.

Bahieldin, A. (2002). The current status of modern Biotechnology in Egypt Symposium on Plant Biotechnology: Perspectives from developing countries: Toward a global strategy and indicative action plan for

food security and poverty alleviation ASA/CSSA/SSSA. 2002, Annual Meetings, Indianapolis, 12–14 November 2002.

Derek G. (1999). Biotechnology; the science and the business 2nd Edition spring ham) Harwood academic publisher. 465 p.

FAO (2003). Molecular marker-assisted selection, as a potential tool for genetic improvement of crops, forest trees, livestock and fish in developing countries Background Document to Conference 10 of the FAO Biotechnology Forum, 17 November-14 December 2003.

Global Status *of* Commercialized Biotechnological Genetically Modified Crops. (2004) (http://www.isaaa.org)

Pray, C.E., D. Ma, J. Huang, and F. Qiao, (2001). Impact of Bt-cotton in China World Dev. 29: 813–825.

Staub, J.E. (1996). Genetic Markers, Map Construction and their Application in Plant Breeding. HortScience. 31: 729-741.

الفهرس

الفهرس

الموضوع	الصفحة
الباب الأول: مقدمة فى التقنية الحيوية	
مفهوم التقنية الحيوية	٨
إذن ما هي التكنولوجيا الحيوية ؟	١٠
التحوير الوراثي	١٥
أبرز مدخلات وتطبيقات التقنيات الحيوية	١٦
الأجسام المضادة وحيدة النسيلة	١٦
تقنية زراعة الأنسجة	١٨
الإستنساخ والإستنسال	١٨
هندسة البروتينات	١٩
تقنية الهجين	١٩
مخرجات التقنية الحيوية	٢١
تطبيقات التقانات الحيوية فى العالم	٢٥
فوائد التكنولوجيا الحيوية	٢٧
الباب الثانى: هندسة الجينات ودورها فى التكنولوجيا الحيوية	
قصة الجينات	٣٨
تركيب وتنظيم الجين	٤٠
تنشيط الجين	٤٥
آلية عمل الجينات	٤٧
التخليق الحيوى للبروتين	٥٠
الأحماض النووية	٥٤
خواص الأحماض النووية	٦٢

خصائص وصفات الحامض النووى ٦٤
تضاعف أو تناسخ (تكرار) المادة الوراثية ٦٧
آلية تضاعف المادة الوراثية ٦٨
إستخلاص وعزل المادة الوراثية فى النبات ٧٤
تقنية التفاعل البنائى التتابعى ٧٦

الباب الثالث: الإستنساخ الوراثى والإتجاهات الحديثة فى التكنولوجيا الحيوية

خطوات هندسة الكائنات الحية وراثياً ٨٥
تصميم الخرائط الوراثية ٨٥
الإرتباط الوراثى أو الخرائط الهجينة ٨٦
تهجين الأحماض النووية وخرائط التماثل ٨٦
الخرائط الجزيئية ٨٧
إستخدام الميكروسكوب الإلكترونى في رسم الخرائط الكروموسومية ٨٨
خرائط الإنتشار الإنزيمي المقيد ٨٨
دراسة تتابع النيكلوتيدات داخل الجين ٨٩
معالجة الجين المعزول لكى يعبر وراثياً عن نفسه ٩١
مرحلة تطعيم الجين وإكثاره ٩٣
نقل الجين إلى الجينوم ٩٤
النقل بواسطة البكتيريا الزراعية ٩٤
دمج الجينات إلى خلايا البروتوبلاست ٩٦
طريقة الحقن المجهري ٩٦
تقنية المسدس الجينى ٩٧
النقل بالفاچ ٩٨
زراعة الأنسجة النباتية ٩٩
قص وقطع الحمض النووي ١٠١
الإنزيمات القاطعة ١٠٢

القطع المحددة ١٠٥
قطع DNA على لوح من الچل بالتفريد الكهربي ١٠٧
معرفة التسلسل النووي ١٠٩
الناقلات ١١٣
البلازميد ١١٣
الناقلات الفيروسية ١١٥
الناقلات الكروموسومية الصناعية ١١٦
النسخ والإستنساخ ١١٦
نسخ أو إستنساخ القطع من DNA عن طريق الهندسة الوراثية ١١٧
بناء جزيئات من DNA المعاد توليفها ١١٩
نقل القطعة المهجنة والموجودة بداخل الناقل إلى الخلية الحية ١٢١
عزل سلالات المادة الوراثية والسماح لها بالتكاثر فى أطباق الزراعة ١٢١
الإستنساخ التكاثري ١٢٣
الإستنساخ العلاجي ١٢٥

الباب الرابع: دور التقنية الحيوية فى دعم التنمية الريفية (الإيجابيات والسلبيات)

الفرص المتاحة أمام نشر المحاصيل المحورة وراثياً ١٢٩
وضع المحاصيل المحورة وراثياً في الشرق الأوسط ١٣١
دور التقانة الحيوية في تنمية تحسين المحاصيل الزراعية ١٣١
بعض سلالات من الطماطم والموز مقاومة للسرطان تتصدر إنجازات التقنية الحيوية ١٣٢
بعض أنواع من الكتان تقي من سرطان البروستاتا ١٣٣
دور التقانة الحيوية في تنمية الثروة الحيوانية ١٣٤
المخاوف الناشئة عن إنتاج المحاصيل المحورة وراثياً ١٤٠
المخاوف الناشئة عن الحروب البيولوجية ١٤٣
ثورة الكواشف الحيوية الميكروبية والإستخدامات البيئية ١٤٦

تعريف الكواشف الحيوية	١٤٦
لماذا الكواشف الحيوية ؟	١٤٧
أنواع الكواشف الحيوية الميكروبي	١٤٨
طرق التحليل التقليدية	١٥٢
طرق التحليل البيولوجية	١٥٢
تطبيقات الكواشف الحيوية	١٥٣
مجال الصحة	١٥٣
مجال الهندسة الوراثية	١٥٦
إستخدامات أخري	١٥٦
منظمة الأغذية والزراعة والتقنية الحيوية	١٥٨
هل تلبّي التكنولوجيا الحيوية إحتياجات الفقراء؟	١٥٨
الآثار الإقتصادية للتقنيات الحيوية	١٦٥
أهداف التنمية الألفية	١٦٨
تخفيف الفقر وتحسين الحياة والبيئة لبناء عالم أفضل للجميع	١٦٨
الأبعاد الأخلاقية للتقنية الحيوية	١٧٥
قاموس مصطلحات التقنيه الحيوية	١٧٨
المراجع	٢١٠
الفهرس	٢١٣